



# Le « point limite » en expérimentation animale



# Sommaire

- **Définition du « point limite »**
- **Principe directeur**
  
- **Procédures recommandées pour le choix d'un «point limite »**
  - Observer les animaux de manière appropriée*
    - Évaluation quantitative des observations physiologiques
    - Évaluation des observations comportementales
- **Utilisation d'études préliminaires pour déterminer les « points limites » appropriés**
- **Déterminer la fréquence d'observation des animaux**
- **Définir les responsabilités relatives à l'observation des animaux**
- **Formation du personnel pour l'observation clinique des animaux**
- **Le rôle du comité régional d'éthique**
- **Principes directeurs dans certains secteurs spécifiques de la recherche biomédicale et des tests**
  - Production d'anticorps monoclonaux chez les rongeurs*
  - Recherche sur le cancer*
  - Études en toxicologie et tests de toxicité*
    - Tests de toxicité aiguë
      - Études de toxicité aiguë chez les poissons
    - Études de toxicité chronique et études sur le vieillissement
  - Études sur la douleur*
  - Études des maladies infectieuses, essais cliniques de vaccins,...*

## **Bibliographie**

### **Comités régionaux d'éthique pour l'expérimentation animale**

## LE « POINT LIMITE » EN EXPÉRIMENTATION ANIMALE

---

*Toute personne impliquée dans l'utilisation des animaux dans le but de faire de la recherche, de l'enseignement et des tests, les chercheurs et leur personnel de recherche, vétérinaire des animaux de laboratoire ou animaliers, a des responsabilités vis à vis des animaux d'expérimentation, quant aux soins et au comportement humanitaire à avoir à leur égard.*

*En travaillant conjointement avec les chercheurs pour l'établissement de « points limites » appropriés, les Comités régionaux d'éthique doivent veiller à ce que les critères appropriés soient utilisés par le chercheur responsable dans la détermination du « point limite ».*

*Grâce à l'utilisation de listes de vérification, des observations et de systèmes d'évaluation quantitative de l'état de l'animal, les « points limites » les plus objectifs et les plus humanitaires peuvent être identifiés. Les responsabilités relatives à l'observation et à la surveillance de l'état de l'animal doivent être clairement définies. Les personnes impliquées dans l'établissement et la validation des « points limites » sont encouragées à présenter et à publier leurs données afin de soutenir les efforts continus pour le perfectionnement et le raffinement des pratiques recourant à l'utilisation d'animaux en recherche biomédicale.*

Avec l'autorisation du CCPA (Conseil canadien de protection des animaux)  
D'après Choisir un « point limite » approprié lors de l'utilisation des animaux en recherche,  
en enseignement et pour les tests, de G. Demer



L'expérimentation animale pratiquée dans nos laboratoires de recherches doit être réalisée dans des conditions respectant la réglementation et donc se conformer aux textes réglementaires en vigueur. Le décret du 19 octobre 1987 et les arrêtés du 19 avril 1988 constituent les principaux éléments de transposition en droit français des dispositions de la directive du Conseil des Communautés européennes n° 86/609/CEE du 24 novembre 1986 « concernant le rapprochement des dispositions législatives, réglementaires et administratives des états membres relatives à la protection des animaux utilisés à des fins expérimentales ou à d'autres fins scientifiques ».

En tout état de cause, le chercheur qui se conforme à cette réglementation devra tenir compte du fait qu'il utilise des êtres vivants capables d'éprouver de la souffrance et le problème, pour lui, sera d'apprécier la souffrance animale induite par son expérimentation et de fixer les limites au-delà desquelles la détresse animale est difficilement tolérable.

Il existe quelques documents concernant des réflexions poussées dans ce domaine de « point limite » et notamment celles du CCPA qui ont été publiées dans plusieurs revues.

Avec son autorisation, nous proposons un certain nombre de réflexions qui peuvent aider les chercheurs dans la quête d'un équilibre entre l'expérimentation nécessaire et le respect de l'animal en tant qu'être sensible capable de souffrance. Dans ce document ont été supprimés tous les éléments spécifiques à la réglementation canadienne et nous avons adapté certains passages à notre problématique européenne et française en tenant compte de nos propres fonctionnements et de nos propres structures de régulation.

### **Définition du « point limite »**

**Le « point limite » est le moment auquel la souffrance et/ou la détresse d'un animal d'expérimentation doit être arrêtée, minimisée ou diminuée à l'aide de mesures telles que l'euthanasie (à condition qu'elle soit faite de façon supportable pour l'animal), par l'arrêt du processus qui le fait souffrir, ou par un traitement visant à le soulager.**

### **Principe directeur**

**Dans les expériences faites sur les animaux, toute souffrance, détresse ou inconfort réel ou potentiel devraient être minimisés ou allégés en choisissant le point limite le plus précoce, compatible avec les objectifs scientifiques de la recherche. Les Comités d'éthique régionaux pourront aider les chercheurs dans leur démarche de recherche du « point limite ».**

## **PROCÉDURES RECOMMANDÉES POUR LE CHOIX D'UN « POINT LIMITE »**

L'animal à l'état moribond peut avoir dépassé le seuil de douleur. Il peut être dans le coma ou ne pas répondre aux stimuli, montrer des signes de dyspnée ou d'autres problèmes respiratoires sérieux, être en hypothermie, dans un état de prostration, etc. Cependant, des observations détaillées de l'animal avant qu'il ne devienne moribond peuvent contribuer à établir un « point limite » plus précoce et, en conséquence, réduire les contraintes imposées à l'animal en termes de souffrance et/ou de détresse.

Plusieurs aspects sont à considérer dans la définition d'un « point limite » approprié pour une expérience donnée. Ils dépendent tous de l'observation objective d'une quelconque modification de l'état « normal » de l'animal, puis de la corrélation de ces modifications avec les degrés d'inconfort, de souffrance et/ou de détresse.

Il faut donc :

- observer les animaux de manière appropriée (comportement, physiologie, etc.) ;
- assigner des valeurs objectives aux observations liées au comportement et à la physiologie de l'animal ;
- déterminer les indicateurs les plus significatifs de souffrance et/ou de détresse dans les circonstances spécifiques de la recherche ;
- déterminer les facteurs prédictifs les plus significatifs d'une détérioration irréversible de l'état de l'animal, et identifier le point le plus précoce auquel ces signes se manifestent ;
- répondre aux objectifs scientifiques concernant la détermination d'un point limite objectivement mesuré et donc significatif ;
- définir clairement l'information/les données recherchées à travers les expériences ;

### **Observer les animaux de manière appropriée**

Les chercheurs canadiens Morton et Griffiths (1985) ont dégagé les grandes lignes de l'élaboration d'un ensemble d'observations pour l'évaluation de la souffrance, de la détresse et de l'inconfort des animaux de laboratoire en se basant sur les cinq paramètres suivants :

- 1.** - variation du poids de l'animal (et variations de l'ingestion de nourriture et d'eau) ;



2. - apparence physique externe ;
3. - signes cliniques mesurables (ex.: changements des rythmes cardiaque et respiratoire et de leur nature) ;
4. - changement du comportement ;
5. - réponses comportementales aux *stimuli* externes.

Dans chacune de ces catégories, il convient d'établir un système d'évaluation avec indices de 0 (normal ou léger) à 3 (changements importants par rapport à la normale). L'indice cumulatif obtenu en ajoutant les valeurs de chacune des catégories indique chez l'animal une déviation croissante par rapport à la normale qui peut être une indication de souffrance et/ou de détresse croissante. Une valeur totale peut alors être signifiée, point auquel la souffrance et/ou la détresse de l'animal sera éliminée ou soulagée. Les observations énumérées par Morton et Griffiths (1985) sont que quelques-unes des observations pouvant être nécessaires à la détermination d'un « point limite » dans des modèles de recherche spécifiques.

En dehors des mesures comportementales et physiologiques, un certain nombre d'indicateurs hormonaux ont été utilisés afin de mesurer le stress/la détresse des animaux (catécholamines, corticostéroïdes, prolactine, facteur de nécrose tumorale, interleukines) (*National Research Council Canada - NRC, 1992*). L'opinion est partagée quant à la prise en compte de l'une ou l'autre de ces hormones. Néanmoins, si les protocoles de recherche incluent tous une prise de sang, le chercheur devrait envisager repérer les indicateurs de stress. Cette information intéressante pourrait permettre d'établir une corrélation avec tout changement comportemental.

Il est important de connaître le comportement caractéristique de l'espèce observée. Les animaux tels que les primates non humains, les rongeurs, les lapins et certaines espèces d'animaux de ferme peuvent ne présenter que très peu de changements comportementaux malgré une souffrance intense. Les variations d'une lignée à l'autre doivent être également prises en considération. Il est donc impératif que le chercheur/observateur connaisse bien ces caractéristiques avant de définir des « points limites ».

Concrètement, l'animal devrait d'abord être attentivement observé sans être dérangé : l'observation des différentes postures permettront d'évaluer un comportement normal ou anormal. La réaction de l'animal à un stimulus externe peut également être vérifiée (ex. : bruit, variation de l'intensité lumineuse) avant de s'approcher directement de la cage pour manipuler l'animal. Ensuite, l'animal devrait être manipulé pour l'examen clinique. Durant celui-ci, les signes cliniques et des mesures (dont celle du poids de l'animal) sont notés. Toute lésion ou anomalie est également évaluée à ce moment là (ex.: taille de la tumeur). Pendant l'examen clinique, il convient également de noter les réponses aux « comportements provoqués ».

L'utilisation de « listes de vérification » basées sur l'observation pour évaluer de manière quantitative l'état de l'animal utilisé dans une étude, fournit une base objective pour déterminer le « point limite ». Les listes de vérification permettent de prendre en compte certaines observations. De telles listes de vérification aident à améliorer les capacités d'observation, particulièrement pour les petits animaux de laboratoire pour lesquels certaines observations cliniques conventionnelles faites sur de plus grands animaux ne sont pas faciles à déterminer (ex. : température, rythme cardiaque, rythme respiratoire). Toutefois, les listes de vérification ne peuvent pas prendre en compte toutes les anomalies et ne constituent donc qu'un moyen facile d'enregistrer certains résultats. Elles ne peuvent pas remplacer un examen approfondi de l'animal.

Morton et Griffiths (1985), et Sanford *et al.* (1986) ont mis l'accent sur la nécessité de faire des évaluations plus objectives de la souffrance et/ou de la détresse que peut ressentir l'animal utilisé en recherche biomédicale. Depuis 1985, des efforts n'ont cessé d'être faits pour affiner l'évaluation quantitative des signes cliniques (Morton, 1990 ; Morton et Townsend, 1995 ; Workman *et al.*, 1998). Des listes de vérifications observationnelles plus détaillées ont été proposées pour certaines procédures scientifiques spécifiques, en particulier pour l'administration d'endotoxine chez la souris (Townsend et Morton, 1994), la production d'anticorps monoclonaux chez la souris (Morton, 1997), et la recherche sur le cancer (Workman *et al.*, 1998).

Certains symptômes et signes extérieurs de souffrance sont spécifiques et liés à chaque cas. Pour la plupart des modèles animaux de maladies, l'information sur le(s) organe(s) affecté(s), les symptômes spécifiques, la progression des symptômes, l'évolution de la maladie et les lésions prévues, sont répertoriés dans la littérature médicale comparative et vétérinaire générale (ex. : Armed Forces Institute of Pathology [AFIP] Fascicles). Ces symptômes et signes spécifiques doivent également être utilisés dans l'évaluation globale de l'état de l'animal.

Les résultats d'études pilotes ou d'informations précédemment publiées, ainsi que des informations sur la pharmacologie ou la chimie des produits testés devraient être utilisés afin de repérer leurs effets négatifs sur les animaux. Ceci implique nécessairement qu'une recherche bibliographique complète ait été faite.

### **Évaluation quantitative des observations physiologiques**

Des informations sur les signes de souffrance et de détresse des différentes espèces couramment utilisées en recherche biomédicale est disponible (CCPA, 1993 ; Sanford *et al.*, 1986 ; Wallace, *et al.*, 1990). Parmi eux, une perte de poids significative peut être l'un des signes de détérioration de l'état de l'animal les plus importants (réflé-



tant un changement dans l'ingestion de nourriture et d'eau).

Une **perte de poids** dans ces circonstances doit toujours être évaluée par rapport à l'animal témoin correspondant. Des tableaux d'évaluation pour le bétail, les chiens et les chats, peuvent être utiles pour évaluer la perte de poids.

L'**hypothermie** peut également être un indicateur important de détérioration de l'état de l'animal, dans le cas de maladies ou d'états toxiques spécifiques. Wong *et al.* (1997) ont montré que chez des souris infectées par le virus de la grippe, une température corporelle de moins de 32 °C indique la mort prochaine de l'animal. Soothill *et al.* (1992) ont montré que chez des souris avec une infection bactérienne, une hypothermie de 34 °C signifiait également la mort prochaine de l'animal. Par conséquent, dans des cas particuliers d'expériences, la température minimale pourrait être établie comme « point limite » nécessitant l'euthanasie de l'animal.

Le rapport d'un comité de la British Laboratory Animal Science Association (Wallace *et al.*, 1990) comprend l'évaluation de la sévérité des expériences couramment effectuées sur les animaux lors d'études biomédicales. D'autres publications sont également disponibles pour faciliter l'identification des signes et symptômes de la souffrance et/ou de la détresse des animaux d'expérimentation (Barclay *et al.*, 1988 ; Baumans *et al.*, 1994 ; British Veterinary Association, 1985 ; Butler *et al.*, 1985 ; De Castro Costa *et al.*, 1981 ; Flecknell 1994 ; Keefe *et al.*, 1991 ; Wolfensohn et Lloyd, 1994 ; Soma, 1987).

### Évaluation des observations comportementales

Pour tout modèle animal, nombreuses sont les observations et mesures qui peuvent être faites. Déterminer celles qui sont les plus importantes ou les plus significatives en ce qui concerne l'état de l'animal ou, ce qui est plus important pour le scientifique, les indicateurs les plus importants d'une détérioration irréversible de l'état de l'animal, n'est pas une tâche facile. Les études de Butler *et al.* (1985) et de De Castro Costa *et al.* (1981), qui se penchent sur le modèle de l'arthrite induit par adjuvant chez le rat, donnent un aperçu des difficultés rencontrées pour trouver/choisir les bonnes observations. Bien que des changements aient été notés dans la fréquence de l'occurrence de plusieurs types de comportements (les rats se cabraient, couraient, mangeaient, buvaient et grimpaient moins mais se reposaient, s'immobilisaient et se grattaient plus), la conclusion fut que l'augmentation du grattage est le changement comportemental le plus significatif lié au développement de l'arthrite, indiquant une douleur chronique.

De telles évaluations (Butler *et al.*, 1985 ; De Castro Costa *et al.*, 1981) constituent en elles-mêmes un travail de recherche nécessitant de nombreuses heures de travail

ainsi qu'un équipement coûteux pour la surveillance et l'analyse. Il peut sembler peu réaliste d'exiger une évaluation préliminaire à chaque initiation d'un programme de recherche utilisant des animaux d'expérimentation pour lesquels le niveau potentiel de souffrance et/ou de détresse est élevé (par exemple, des souris utilisées dans un projet de recherche sur le cancer du foie) est lancé. Néanmoins, faire une étude pilote pour établir les critères observationnels à utiliser pour établir des « points limites » peut s'avérer être un exercice très utile, en particulier au démarrage d'un projet de recherche.

## UTILISATION D'ÉTUDES PRÉLIMINAIRES POUR DÉTERMINER LES « POINTS LIMITES » APPROPRIÉS

L'utilisation d'études préliminaires ou pilotes peut s'avérer très utile pour la détermination du « point limite » (Olfert, 1995 ; Browder, 1995, Everitt et Griffin, 1995) particulièrement lorsque les effets du traitement sur les animaux ne sont pas connus. Une étude pilote utilisant un nombre restreint d'animaux peut aider à déterminer la morbidité, la durée des effets et la fréquence des observations nécessaires à l'établissement d'un « point limite » plus précoce. Une étude pilote peut également donner une indication sur la variance des réponses entre les groupes de traitement ; elle peut être alors utilisée pour estimer plus précisément la taille appropriée des groupes de l'étude principale. De plus, mener une expérience pilote offre à tous l'occasion de se familiariser avec les signes et symptômes probables.

## DÉTERMINER LA FRÉQUENCE D'OBSERVATION DES ANIMAUX

**Principe directeur :** en tenant compte des éléments connus il est recommandé, pendant les périodes critiques de l'expérience et dès que l'animal commence à manifester des réactions négatives, de faire un minimum de deux à trois observations par jour. La fréquence des observations devrait augmenter en fonction de l'augmentation potentielle de la souffrance et/ou de la détresse.

Le *Manuel sur le soin et l'utilisation des animaux d'expérience* du CCPA stipule que les animaux d'expérience, normaux et en bonne santé, devraient être observés au moins une fois par jour (CCPA, 1993). Cependant, dès que l'animal se trouve dans une période critique et affaibli, des observations doivent être faites plus fréquemment.



La fréquence à laquelle les animaux affectés doivent être observés est à déterminer pour chaque étude. La fréquence nécessaire des observations et l'intervalle entre celles-ci dépendent de la durée totale de l'expérience. Par exemple, dans certains cas d'infections et/ou de toxicité, des observations bien plus fréquentes (toutes les heures) peuvent être nécessaires pour identifier le point auquel le « point limite » choisi a été atteint et il doit être mis fin à la souffrance et/ou à la détresse de l'animal (Morton et Townsend, 1995 ; Townsend et Morton, 1994). Programmer l'étude afin que la période critique pour les animaux et leur observation se produise durant les heures normales de travail (lorsque la pièce des animaux est éclairée) peut aider à garantir que les observations appropriées soient faites.

L'horaire approprié de surveillance devrait être établi par le chercheur en consultation avec le responsable du plateau d'expérimentation animale et le comité d'éthique qui a eu à examiner le protocole expérimental.

## DÉFINIR LES RESPONSABILITÉS RELATIVES À L'OBSERVATION DES ANIMAUX

**Principe directeur :** en ce qui concerne l'établissement et la détermination des « points limites, » la(les) responsabilité(s) de chacun devrai(en)t être clairement définie(s) et un suivi ordonné du résultat des observations bien établi. La décision finale d'euthanasier doit revenir au responsable de l'animalerie.

Il est essentiel qu'une personne ayant l'expérience et la formation appropriées ainsi que le pouvoir d'euthanasier ou de demander l'euthanasie des animaux soit constamment disponible pendant l'étude. Toute observation d'un comportement inhabituel ou de signes de souffrance et/ou de détresse devrait être rapportée immédiatement à cette personne. C'est également important afin de réagir dans le cas où les animaux présentent des réactions négatives inattendues dans le cadre d'une étude invasive. Le pouvoir d'euthanasier des animaux qui ont atteint le « point limite » ou qui subissent de graves effets négatifs imprévisibles devrait être clairement défini avant que l'étude ne commence.

## FORMATION DU PERSONNEL POUR L'OBSERVATION CLINIQUE DES ANIMAUX

**Principe directeur :** toute personne responsable des observations à faire sur les animaux à partir desquelles un « point limite » sera déterminé devrait avoir les compétences

nécessaires pour évaluer la physiologie, le comportement et l'état physique normaux ou anormaux des animaux observés ainsi que les changements spécifiques anticipés déviant de la normale.

Il revient au chercheur ou au responsable de l'étude de s'assurer que toutes les personnes impliquées ont la formation nécessaire correspondant à leurs responsabilités dans l'observation des animaux.

## LE RÔLE DU COMITÉ RÉGIONAL D'ÉTHIQUE

Le rôle du Comité régional d'éthique ([la liste des Comités est consultable p. 16](#)) peut être essentiel pour garantir que les « points limites » les plus précoces compatibles avec la production de données fiables sont identifiés et évalués. Afin d'assurer l'établissement d'un « point limite » approprié, les Comités régionaux d'éthique devraient s'informer des points suivants :

- quelles sont les justifications scientifiques de l'utilisation du « point limite » proposé ?
- quelle est la durée d'utilisation prévue des animaux, du traitement initial aux premiers signes de souffrance/détresse jusqu'à la mort de l'animal, d'après les éléments dont on dispose sur l'étude ?
- quel est le moment où les effets se manifesteront le plus gravement sur l'animal ?
- si le cours de la maladie et les répercussions sur l'animal sont inconnus, une étude pilote pourrait-elle, sous l'observation attentive du chercheur, répondre à ces questions ?
- une liste de vérification des observations à partir de laquelle le « point limite » sera établi a-t-elle été dressée ?
- qui surveillera les animaux (identifier tous les responsables) et tiendra les registres ?
- un suivi ordonné du rapport des observations a-t-il été établi ?
- quelles seront les fréquences d'observation des animaux : a) durant le cours de l'étude et b) pendant les périodes critiques pour les animaux ?
- les chercheurs, le personnel technique et de soin animalier ont-ils la formation et l'expertise nécessaires pour surveiller adéquatement les animaux ?
- quelles dispositions ont été prises pour s'occuper des



animaux qui montrent des symptômes et signes graves inattendus ?

- pour des études en toxicologie, les données toxicologiques existantes ont-elles été prises en compte ?

## PRINCIPES DIRECTEURS DANS CERTAINS SECTEURS SPÉCIFIQUES DE LA RECHERCHE BIOMÉDICALE ET DES TESTS

Ce chapitre donne des lignes directrices plus détaillées quant au choix d'un « point limite » approprié dans certains domaines spécifiques de la recherche biomédicale et des tests. Des lignes directrices sur les « points limites » pour les animaux utilisés dans la production d'anticorps monoclonaux, la recherche sur le cancer, la toxicologie, l'étude des maladies infectieuses et la recherche sur la douleur sont présentées. Ce ne sont cependant pas les seuls domaines dans lesquels des lignes directrices spécifiques peuvent être élaborées.

### Production d'anticorps monoclonaux chez les rongeurs

**Principe directeur :** tant que les rongeurs seront utilisés dans la production d'anticorps monoclonaux, les « points limites » suivants devront être établis ;

- l'augmentation du poids due à l'accumulation de liquide ascitique dans l'abdomen et/ou à la croissance d'une tumeur ne devrait pas produire de souffrance et/ou de détresse chez l'animal ;
- selon l'état du rongeur, un maximum de deux ponctions de liquide ascitique sont autorisées, la deuxième ponction devant être une procédure terminale. Les ponctions de liquide ascitique devraient être faites sous anesthésie générale.

Il est largement reconnu que la production d'anticorps monoclonaux (AcM) chez les rongeurs soulève plusieurs questions préoccupantes concernant le potentiel de souffrance et/ou de détresse grave chez les animaux. Du fait du développement rapide de la méthodologie de production *in vitro* des AcM, l'utilisation des animaux est de plus en plus difficile à justifier. Par conséquent, plusieurs pays ont pris position sur le fait que les méthodes alternatives *in vitro* devraient être utilisées pour la production d'AcM et que la méthode du liquide ascitique de la souris ne peut être justifiée que dans des circonstances particulières (ex. : lorsque la méthode *in vitro* n'a pas permis de produire les anticorps voulus). Récemment, certains pays ont pris position contre la production de liquide ascitique chez la souris (Shalev, 1998).

En tout état de cause, lorsqu'on produit *in vivo* des anticorps monoclonaux, il est indispensable de définir précisément les limites et les « points limites », ainsi qu'une surveillance rigoureuse des animaux pour minimiser le potentiel de détresse.

Après l'injection des hybridomes, des observations quotidiennes faites par du personnel bien formé doivent faire partie des soins de routine durant la première semaine avant que l'accumulation de liquide ascitique ne soit évidente (repérée par le gonflement de l'abdomen). Tous comportements ou symptômes inhabituels pendant cette phase doivent être traités sans délai. Les signes caractéristiques de détresse sont les suivants : activité réduite, dos voûté, poils ébouriffés, détresse respiratoire, perte de poids (qui peut être masquée par l'accumulation de liquide dans l'abdomen). Dès que l'accumulation de liquide ascitique est mise en évidence, l'état de l'animal doit être évalué à intervalles réguliers (2 fois par 24 heures).

Les conditions d'expérience au cours de la production d'anticorps chez les rongeurs est un excellent exemple pour illustrer le raffinement des procédures par l'établissement de « points limites » visant à réduire la détresse éprouvée par les animaux et le remplacement de l'expérimentation sur les rongeurs par des méthodes *in vitro*. Pour un compte rendu et une bibliographie sur la production d'anticorps et les méthodes alternatives, se référer à Smith, *et al.*, 1997. Les raffinements et les points limites dans la production d'AcM chez les rongeurs sont revus par Gillette, 1987 ; Marx *et al.*, 1997 ; McGuill et Rowan, 1989 ; Mueller *et al.*, 1986 ; Workman *et al.*, 1998.

### Recherche sur le cancer

**Principe directeur :** pour toute recherche sur le cancer faisant appel à des modèles animaux, des « points limites » devraient être établis afin de minimiser le potentiel de souffrance et/ou de détresse chez les animaux.

Quelques-uns des points limites recommandés :

- la masse de la tumeur ne devrait augmenter ni au point d'interférer significativement avec les fonctions normales du corps ni au point d'induire, du fait de son emplacement, souffrance et/ou détresse (tumeurs solides) ;
- une perte de poids dépassant 20 % du poids du corps d'un animal normal (en tenant compte de la masse tumorale) ;
- une ulcération/infection à l'emplacement de la tumeur ;
- un envahissement des tissus voisins par une tumeur localisée ;
- un trauma auto-induit persistant.



La charge tumorale ne devrait pas excéder 5 % du poids normal de l'animal lors de **passages de routine** de tumeurs ou 10 % pour les animaux sujets d'expériences thérapeutiques (pour une tumeur sous-cutanée du flanc, 10 % correspondent typiquement à un diamètre de 17 mm pour une souris de 25 g, ou de 35 mm pour un rat de 250 g). Des courbes d'étalonnage devraient être établies dans le cadre de la caractérisation de tout nouveau système tumoral (Workman *et al.*, 1998).

L'une des préoccupations scientifiques au sujet de l'établissement arbitraire d'un « point limite » lors de recherches en oncothérapie est que l'euthanasie précoce de l'animal peut fausser les données sur la survie ou la longévité qui constituent des indicateurs importants d'un traitement « fructueux ». Par exemple, un traitement « fructueux » du cancer chez le rat permettant à ce dernier de vivre un mois de plus, peut être voilé par une euthanasie précoce basée sur les observations cliniques. Workman *et al.* (1998) recommandent que l'information requise sur la réponse à la thérapie soit obtenue par une mesure du temps nécessaire à la recroissance de la tumeur, un test clonogénique après l'excision de la tumeur ou un autre « point limite » approprié. Dans de tels cas, il est important de déterminer les signes de maladie et de détresse indiquant une détérioration irréversible de l'animal.

Redgate *et al.* (1991) dans leur étude d'un modèle de tumeur au cerveau chez le rat (gliosarcome 9L chez des rats Fischer 344), ont conclu qu'il existait une forte corrélation entre une perte de poids durant plus de six jours et une progression irréversible vers la mort. Dans ce modèle, un « point limite » qui répond aux préoccupations scientifiques pouvait être ainsi établi à la fin d'une période de six jours consécutifs de perte de poids, ce qui dans ce cas correspondait à dix jours avant la mort de l'animal.

Le document de l'United Kingdom Coordinating Committee on Cancer Research (UKCCCR) (Workman *et al.*, 1998) contient un examen détaillé des nombreux facteurs de bien-être devant être pris en compte lorsque la recherche sur le cancer est entreprise, et donne de précieux renseignements à l'intention des chercheurs et membres des CPA. Des critères supplémentaires relatifs au choix d'un « point limite » dans la recherche sur le cancer et en toxicologie ont été proposés par Montgomery (1987, 1990), Redgate *et al.* (1991), et Tomasovic *et al.* (1988).

## Études en toxicologie et tests de toxicité

### Tests de toxicité aiguë

Dans la plupart des études toxicologiques, le chercheur s'intéresse à(aux) l'interaction(s) primaire(s) ou secondaire(s) du composé avec les cellules et tissus du corps, et non aux effets tertiaires (tels que la déshydratation, l'ano-

rexie, etc.) qui peuvent provoquer la mort de l'animal. Par conséquent, d'un point de vue scientifique, il est important de recueillir autant de données que possible lorsque les essais cliniques en sont au stade préliminaire. Toute donnée recueillie sur un animal moribond, de même que la mort subite d'un animal, représentent une perte d'information sur les effets du composé étudié (Toth, 1997).

Au début d'une étude toxicologique, les informations sur les composés à tester sont peu nombreuses. Néanmoins, on peut trouver des données sur la classe de composés, ou sur des composés de structure chimique semblable qui peuvent être utilisées à titre de guide dans la préparation du plan expérimental. Ces études ont pour but d'établir les doses et les effets d'une administration, qu'elle soit unique ou répétée, la toxicité et/ou les réponses pharmacologiques anormales.

L'utilisation d'études pilotes pour la détermination de « points limites » (Olfert, 1995 ; Browder, 1995 ; Everitt et Griffin, 1995) est très utile lorsqu'il s'agit d'étudier des composés dont les effets sont inconnus. En utilisant un petit nombre d'animaux et en commençant avec les plus faibles doses, la morbidité, la durée des effets et la fréquence des observations nécessaires afin d'établir des « points limites » plus précoces pourraient être déterminées. Si les données colligées lors d'études pilotes établissant des « points limites » plus précoces dans le cadre d'études spécifiques de toxicité étaient fournies aux agences de réglementation, elles pourraient aider ces dernières à valider et à approuver des « points limites » plus précoces. Faire une expérience pilote donne également la possibilité à chacun de mieux connaître les signes et symptômes attendus.

Les études sur la détermination des doses minimales et maximales sont largement utilisées dans les programmes pharmaceutiques de recherche en toxicologie. Les doses sont choisies d'après les données pharmacologiques, les caractéristiques pharmaco-cinétiques et les données concernant la classe de médicaments étudiée. Ces études donnent également une indication sur les organes cibles potentiels, des effets négatifs imprévus pouvant être examinés lors d'études ultérieures, tandis qu'elles réduisent de façon significative le nombre d'animaux nécessaires.

Le test DL<sub>50</sub> classique ne devrait être effectué que lorsqu'il est spécifiquement justifié pour des exigences scientifiques.

Le choix des tests de toxicité devrait tenter de répondre aux critères de l'ensemble des diverses agences de réglementation nationales afin de minimiser la nécessité de répéter les études pour un pays spécifique. Dans chacun des cas, le chercheur doit vérifier avec la(les) agence(s) de réglementation afin de déterminer le(s) test(s) nécessaire(s).

Recalculer les données toxicologiques publiées précé-



demment devrait également être envisagé, afin de vérifier la précision des valeurs  $DE_{50}$  (dose efficace 50) et  $DL_{50}$  (Irvine *et al.*, 1992).

## Études de toxicité aiguë chez les poissons

Les tests de toxicité aiguë sur des poissons ont été effectués dans le cadre de la protection de l'environnement des effluents industriels et de l'évaluation des risques induits par de nouveaux pesticides en agriculture et en foresterie. La question principale touche à la sécurité tandis que la pathologie associée à la toxicité n'éveille que peu d'intérêt.

Si aucune information n'est disponible quant à la toxicité potentielle du matériel à tester sur le poisson, une étude de détermination des doses minimales et maximales devrait être faite avec un nombre minimal de poissons. À l'apparition de signes cliniques suraigus d'irritation ou de toxicité, le poisson devrait être immédiatement retiré et transféré dans de l'eau propre. Si aucune réduction substantielle des signes cliniques n'apparaît dans les cinq minutes qui suivent le transfert en eau propre, le poisson devra être euthanasié.

Ce n'est que lorsqu'une concentration des échantillons à tester ne provoquant pas de signes cliniques suraigus a été identifiée qu'un plus grand nombre de poissons pourront être exposés à cette dose et à des concentrations plus faibles qui seront utilisées pour déterminer la toxicité aiguë. Le nombre minimal de dilutions avec un nombre minimal de répétitions et un nombre minimal d'animaux utilisés par dilution, compatibles avec l'intervalle de confiance et le degré de précision exigés, doivent être utilisés.

Dans le cas d'un contrôle d'effluents qui dépasseraient de loin les limites de sécurité demandées, les tests devraient s'inscrire dans une approche offrant des résultats acceptables ou non-acceptables plutôt que de quantifier la dilution qui donne un « point limite » spécifié (ex. :  $CL_{50}$  - Concentration létale 50%).

Pendant la période initiale d'exposition, les poissons doivent être observés de façon continue durant les 45 à 60 premières minutes. Les observations suivantes devraient être faites selon une progression géométrique (ex. : 1,5 h ; 3 h ; 6 h et 12 h) puis au minimum deux fois par jour jusqu'à la fin de l'étude. La fréquence des observations devrait augmenter avec l'apparition de signes cliniques quels qu'ils soient. Dès l'apparition de signes cliniques graves incompatibles avec la survie du poisson (ex. : bouche bée, violentes collisions avec le côté du bassin ou de l'aquarium, hyperactivité), celui-ci devrait être enlevé et transféré en eau propre. Si les signes cliniques persistent sans interruption pendant plus de cinq minutes ou sont suivis par un comportement anormal ou par une position anormale dans la

colonne d'eau en eau propre, le poisson devrait être euthanasié.

## Études de toxicité chronique et études sur le vieillissement

Ces deux domaines sont les plus controversés pour la détermination des « points limites » et plus particulièrement les études de carcinogénicité exigées dans le cas de demandes concernant les nouveaux médicaments. Dans ces études, les animaux peuvent recevoir le composé à l'essai pendant une période pouvant aller jusqu'à deux ans par les mêmes voies d'administration qui celles qui seront utilisées chez les humains. La plupart du temps, celles-ci sont orales (par gavage ou mélange au régime alimentaire) mais d'autres voies peuvent être utilisées.

Le logement et les soins des animaux qui vieillissent demandent une attention spéciale quant à leur confort et à leur bien-être. Les rats de plus de 18 mois, par exemple, tendent à être gros et à avoir des problèmes liés à leur poids tels des lésions aux coussinets des pattes, de l'obésité et des tumeurs. L'utilisation de cages à fonds solide ainsi que d'une litière appropriée améliorera le niveau de confort des animaux. Les animaux âgés peuvent également avoir besoin d'une attention particulière quant à la manière dont la nourriture et l'eau leur sont présentées.

## Études sur la douleur

Les recherches menées sur la douleur chez les êtres humains et les animaux engendrent des préoccupations éthiques particulières d'autant que l'étude de la douleur est une discipline à part entière. Destinés à servir de guide, les principes suivants furent extraits des références citées dans la discussion qui s'ensuit sur ce chapitre.

### Principes directeurs :

- les animaux ne devraient être exposés qu'à la douleur minimale nécessaire aux objectifs de l'expérience ;
- la durée de l'expérience devrait être aussi courte que possible et le nombre d'animaux réduit au minimum ;
- des stimuli au seuil de la douleur doivent être utilisés de préférence aux stimuli à des niveaux au-dessus du seuil ;
- si des modèles ou des tests de douleur aiguë sont utilisés au cours desquels la réaction de l'animal ne met pas fin à sa douleur mais que celle-ci peut se prolonger au-delà du temps nécessaire pour avoir des résultats, il devrait être mis fin à cette douleur aussi rapidement que possible ;

- l'utilisation de tests autres que des tests avec comportement d'évitement est fortement déconseillée ;
- dans le cas des modèles animaux souffrant de douleurs chroniques, la douleur doit être soulagée par un analgésique à tout moment. Seules exceptions sur ce point, les cas justifiés par le chercheur auprès du Comité institutionnel de protection des animaux en fournissant la preuve que les analgésiques interféreront avec les objectifs de la recherche.

Les lignes directrices de l'International Association for the Study of Pain (IASP), *Ethical Guidelines for Investigations of Experimental Pain in Conscious Animals* (Zimmermann, 1983), comportent sept points concernant le bien-fondé de l'expérience ainsi que l'intensité et la durée de la douleur induite chez l'animal.

Ces points sont les suivants :

- 1.** - Il est essentiel que les expériences projetées sur la douleur chez des animaux conscients soient auparavant soumises à des scientifiques et des non-scientifiques. Les bénéfices potentiels de telles expériences sur la compréhension des mécanismes de la douleur et de la thérapie de la douleur doivent être démontrés. Le chercheur doit avoir conscience de la nécessité éthique de continuer à justifier ses recherches.
- 2.** - Autant que faire se peut, le chercheur devrait s'appliquer à lui-même le stimulus de la douleur ; ce principe s'applique pour la plupart des stimuli non-invasifs induisant une douleur.
- 3.** - Afin de pouvoir évaluer les niveaux de douleur, le chercheur devrait faire une évaluation attentive des déviations du comportement de l'animal par rapport à la normale. Pour cela, les paramètres physiologiques et comportementaux devraient être mesurés. Le résultat de cette évaluation devrait être consigné dans un compte rendu.
- 4.** - Lors d'études de douleur chronique ou aiguë chez les animaux, le chercheur doit prendre les mesures nécessaires afin de garantir que l'animal est exposé à la douleur minimale nécessaire à la réalisation de l'expérience.
- 5.** - Un animal souffrant apparemment de manière chronique devrait être traité dans le but de soulager sa douleur ou devrait pouvoir s'auto-administrer des procédures ou agents analgésiques sans que cela n'interfère avec les objectifs de l'expérience.
- 6.** - Les études de la douleur chez un animal paralysé par un agent de blocage neuromusculaire ne devraient pas être faites sans anesthésie générale ou une opération chirurgicale adéquate supprimant les sensations.
- 7.** - La durée de l'expérience doit être aussi courte que possible et le nombre d'animaux réduit à son strict minimum.

Dans le cas d'expériences sur la douleur aiguë, un plan détaillé de l'expérience et une réalisation précise de celle-ci permettront d'obtenir des résultats avec un minimum d'animaux. Un « point limite » approprié doit être défini. Le type de test de douleur proposé aura une incidence sur le choix du « point limite ».

Comme le précisent les lignes directrices de l'IASP, il incombe au chercheur d'être parfaitement au fait du comportement des espèces animales utilisées et de repérer les changements physiologiques et comportementaux observés chez les animaux sujets aux stimuli provoquant une douleur. C'est important pour pouvoir repérer des niveaux de douleur élevés le cas échéant. Certains des tests relatifs à la douleur aiguë ont été effectués sur des êtres humains ; ces expériences devraient servir de repère aux chercheurs pour connaître la nature de la douleur produite.

De nombreux tests de douleur utilisent un seuil de douleur qui peut être repéré par le déclenchement d'un comportement d'évitement ou de retrait de l'animal. Si l'intensité du stimulus est au-dessus du seuil nécessaire à l'obtention d'une réponse, l'application du stimulus doit être faite avec une attention particulière. Autant que faire se peut, les stimuli utilisés devraient être au niveau du seuil de douleur plutôt qu'à des niveaux supérieurs à celui-ci. Franklin et Abbott (1989) soulignent que, dans bien des cas, les stimuli avec des niveaux supérieurs au seuil de douleur ne sont pas nécessaires.

Lors de certains de ces tests, les animaux peuvent mettre fin eux-mêmes aux stimuli inducteurs de douleur. Par exemple, dans le test de latence de rétraction de la queue et dans celui de la plaque chauffante, la première réponse de l'animal dénote le « point limite », l'animal est alors soustrait au stimulus. Dans d'autres tests (ex. : les tests induisant une atteinte aux tissus dont le test convulsif et le test de réaction au formol), le stimulus de douleur dure vraisemblablement plus longtemps que la durée du test et les animaux ne peuvent s'y soustraire. Il serait préférable d'utiliser des tests d'évitement plutôt que des tests avec lesquels la douleur persiste après l'obtention des résultats. Si, dans des modèles de douleur aiguë ou des tests de douleur aiguë la réaction de l'animal ne met pas fin à la douleur, il convient de le faire le plus rapidement possible. Les animaux doivent être euthanasiés de manière humanitaire dès la fin du test (ex. : test convulsif) ou des analgésiques doivent leur être administrés.

Les modèles animaux de douleur chronique (arthrite induite par adjuvant chez le rat, par exemple) soulèvent des questions particulières car leur coût peut être très élevé. Il est bien connu que de tels états pathologiques chez les êtres humains sont souvent accompagnés d'une forte douleur accompagnée de détresse. À moins qu'une attention particulière ne soit portée aux modèles animaux utilisés dans une telle étude, la douleur et/ou la détresse pourraient durer au-delà des exigences de la recherche.



Franklin et Abbott (1989) suggèrent que la douleur découlant de l'arthrite induite par adjuvant chez le rat approche une intensité telle que, en se basant sur l'échelle proposée par Morton et Griffiths (1985), un soulagement (par analgésiques) devrait être apporté. Le chercheur principal, le responsable de l'institution et les Comités régionaux d'éthique devraient s'assurer que tous les moyens ont été pris afin de limiter ou de diminuer l'inconfort et la douleur de ces animaux.

Tous les animaux souffrant de manière chronique devraient être suivis avec une attention particulière non seulement pour soulager leur souffrance, mais aussi parce qu'ils nécessitent une gestion et un mode de vie particuliers. En plus des soins habituels donnés aux animaux de laboratoire, il faut s'efforcer d'améliorer le confort de ces modèles animaux (ex. : manipulation délicate, accès facilité à l'eau et à la nourriture, logement dans des cages à fond solide avec une couche épaisse de litière). L'expertise du responsable des animaleries du laboratoire et des techniciens devrait être prise en compte au cours des discussions du Comité régional d'éthique.

### **Études des maladies infectieuses, essais cliniques de vaccins,...**

Certaines études (aussi connues sous le nom de Test de protection des rongeurs ou TPR) faites sur les maladies infectieuses (ex. : tests faits afin d'établir la virulence d'un organisme infectieux) sont encore faites en considérant la mort comme « point limite ». L'utilisation de tests DP<sub>50</sub> (dose protectrice 50 %) chez les souris peut s'avérer

nécessaire lorsque des études anti-infectieuses sont faites.

Soothill *et al.* (1992) ont trouvé que chez les souris infectées par des bactéries, une hypothermie de 34 °C signifiait une mort prochaine. Siems et Allen (1989) ont recommandé que le « point limite » dans un modèle de maladie (infection chronique systémique par *Candida albicans*) soit défini, parmi d'autres mesures, comme étant le point auquel les animaux perdent plus de 20 % de leur poids ou lorsque leur température corporelle baisse de plus de 4 °C, ces deux symptômes pouvant être facilement surveillés. Les variations par rapport à la normale donneraient une valeur maximale sur l'échelle de Morton et Griffiths (1985), indiquant des effets négatifs graves sur l'animal.

Le *Rodent Protection Test Working Party* en Grande-Bretagne énumère les signes spécifiques des infections systémiques : poil ébouriffé (ou hérissé), perte de poids, écoulement des yeux, léthargie, dos courbé, ataxie, tremblement, hypothermie, cyanose (Acred *et al.*, 1994). Des systèmes utiles d'évaluation clinique pour certains tests de protection des rongeurs (TPR) bactériens, dont les TPR pour *Candida albicans* et pour *Herpes simplex*, furent recommandés par le *Rodent Protection Test Working Party* (Acred *et al.*, 1994).

L'utilisation de listes de vérification des observations avec des périodes d'observation suffisamment fréquentes (voir ci-dessus : Déterminer la fréquence d'observation des animaux) permettra au chercheur de détecter le point à partir duquel les signes d'une détérioration progressive de l'état de l'animal sont avant-coureurs d'une mort prochaine (Acred *et al.*, 1994).



# BIBLIOGRAPHIE

Acred, P., Hennessey, T.D., Macarthur-Clark, J.A. *et al.* (1994). Guidelines for the welfare of animals in rodent protection tests - A Report of the Rodent Protection Test Working Party. *Laboratory Animals*, **28** (1) : 13-18.

Association canadienne pour la médecine des animaux de laboratoire (1990). *Déclaration sur les soins vétérinaires adéquats*.

Barclay, R.J., Herbert, W.J. et Poole, T.B., Eds. (1988). *The disturbance index : a behavioural method of assessing the severity of common laboratory procedures on rodents*. UFAW Animal Welfare Research Report n° 2. Herts UK : University. 35 pp.

Baumans, V., Brain, P.F., Brugere, H. *et al.* (1994). Pain and distress in laboratory rodents and lagomorphs. Report of the FELASA Working Group on Pain and Distress. *Laboratory Animals*, **28** : 97-112.

British veterinary association (1985). Proceedings of a symposium : *The Detection and Relief of Pain in Animals*. 101 pp. London UK : BVA Animal Welfare Foundation.

Browder, E.J. (1995). Death as an Endpoint. In : *Proceedings - Current Issues and New Frontiers in Animal Research*. SCAW Conference (eds. K. Bayne, M. Greene & E. Prentice). San Antonio US : Scientists Center for Animal Welfare.

Butler, S.H., Weil-Fugazza, J., Godefroy, F. *et al.* (1985). Reduction of arthritis and pain behaviour following chronic administration of amitriptyline or imipramine in rats with adjuvant-induced arthritis. *Pain*, **23** : 159-175.

Conseil canadien de protection des animaux (1989). *Principes régissant la recherche sur les animaux*. Ottawa (ON) : CCPA.

Conseil canadien de protection des animaux (1991). *Lignes directrices du CCPA sur les techniques d'immunisation approuvées*. Ottawa (ON) : CCPA.

Conseil canadien de protection des animaux (1993). *Manuel sur le soin et l'utilisation des animaux d'expérimentation*, vol. 1, 2<sup>e</sup> éd., 232 p. Ottawa (ON) : CCPA.

De Castro Costa, M., De Sutter, P., Gybels, J. *et al.* (1981). Adjuvant-induced arthritis in rats : a possible model of chronic pain. *Pain*, **10** : 173-185.

Demer, G. (1999). Choisir un « point limite » approprié lors de l'utilisation des animaux en recherche, en enseignement et pour les tests. *Sci. Techn. Anim. Lab.*, **24** : 61-65.

Everitt, J. et Griffin, W. (1995). Proposed IACUC Guidelines for the Review of Rodent Toxicology Studies. *Contemporary*

*Topics in Laboratory Animal Science*, **34** (3) : 72-74.

Flecknell, P.A. (1994). Refinement of animal use - assessment and alleviation of pain and distress. *Laboratory Animals*, **28** (3) : 222-231.

Franklin, K.B.J. et Abbott, F.V. (1989). Techniques for assessing the effects of drugs on nociceptive responses. In : *Neuromethods 13 - Psychopharmacology* (eds. A.A. Boulton, G.B. Baker & A.J. Greenshaw), pp. 145-216. Clifton NJ. US : Humana Press.

Gillette, R.W. (1987). Alternatives to pristane priming for ascitic fluid and monoclonal antibody production. *Journal of Immunological Methods*, **99** : 21-23.

Hamm, T.E. (1995). Proposed institutional animal care and use committee guidelines for death as an endpoint in rodent studies. *Contemporary Topics in Laboratory Animal Science*, **34** (3) : 69-71.

Interagency research animal committee (1993). IRAC Recommendation on LD<sub>50</sub> Testing. *ILAR News*, **35** (3-4) : 56-58.

Irvine, D.G., Reid, K.W., Hancock, D.S. *et al.* (1992). Quality assessment of external data : a further means of reducing animal use for toxicity testing - a case study. *Quality Assurance : Good Practice, Regulation and Law*, **1** (3) : 207-212.

Keefe, F.J., Fillingim, R.B. et Williams, D.A. (1991). Behavioral assessment of pain : nonverbal measures in animals and humans. *ILAR News*, **33** (1-2) : 3-13.

Marx, U., Embleton, M.J., Fischer, R. *et al.* (1997). Monoclonal Antibody Production - The Report and Recommendations of ECVAM Workshop 23. *ATLA*, **25** (2) : 121-137.

Mcguill, M.W. et Rowan, A.N. (1989). Refinement of monoclonal antibody production and animal well-being. *ILAR News*, **31** (1) : 7-11.

Montgomery, C.A. Jr. (1987). Control of animal pain and distress in cancer and toxicological research. *JAVMA*, **191** (10) : 1277-1281.

Montgomery, C.A. Jr. (1990). Oncological and toxicological research : alleviation and control of pain and distress in laboratory animals. *Cancer Bulletin*, **42** (4) : 230-237.

Morton, D.B. (1990). Adverse effects in animals and their relevance to refining scientific procedures. *ATLA*, **18** : 29-39.

Morton, D.B. (1997). Ethical and refinement aspects of animal experimentation. Socio-economic and ethical aspects. In :

*Veterinary Vaccinology* (eds. P.-P. Pastoret, J. Blancou, P. Vannier & C. Verschueren). pp. 763-785. New York : Elsevier Science.

Morton, D.B. et Griffiths, P.H.M. (1985). Guidelines on the recognition of pain and discomfort in experimental animals and an hypothesis for assessment. *Veterinary Record*, **116** : 431-436.

Morton, D.B. et Townsend, P. (1995). Dealing with Adverse Effects and Suffering During Animal Research. In : *Laboratory Animals - An Introduction for Experimenters*, 2<sup>nd</sup> Edn. (ed. A.A. Tuffery). pp. 215-231. UK : Wiley & Sons Ltd.

Mueller, V.W., Hawes, C.S. et Jones, W.R. (1986). Monoclonal antibody production by hybridoma growth in Freund's Adjuvant primed mice. *Journal of Immunological Methods*, **87** : 193-196.

National research council (1992). Recognition and assessment of pain, stress and distress. In : *Recognition and Alleviation of Pain and Distress in Laboratory Animals*. Ch. 4, pp. 32-53. ILAR, NRC. Washington DC : National Academy Press.

Olfert, E.D. (1995). Defining an acceptable endpoint in invasive experiments. *Animal Welfare Information Center Newsletter*, **6** (1) : 3-7.

Organization for economic cooperation and development (1987). Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4 : Health Effects. Paris, France : OECD.

Redgate, E.S., Deutsch, M. et Boggs, S.S. (1991). Time of death of CNS tumor-bearing rats can be reliably predicted by body weight-loss patterns. *Laboratory Animal Science*, **41** (3) : 269-273.

Russell, W.M.S. et Burch, R.L. (1959). The Principles of Humane Experimental Technique. London : Methuen. 238 pp. Universities Federation for Animal Welfare (UFAW), Potters Bar, Herts, UK : England. Special edition (1992).

Sanford, J., Ewbank, R., Molony, V. et al. (1986). Guidelines for the recognition and assessment of pain in animals. *Veterinary Record*, **118** (12) : 334-338.

Shalev, M. (1998). European and US regulation of monoclonal antibodies. *Lab Animal*, **27** (2) : 15-17.

Siems, J.J. et Allen, S.D. (1989). Early euthanasia as an alternative to death in chronic infectious disease studies using a systemic *Candida albicans* model. *Abstr. 89th Annual Meeting of the American Society for Microbiology*.

Smith, C.P., Jensen, D., Allen, T. et al. (1997). Information resources for adjuvants and antibody production : comparisons and alternative technologies - 1990-1997. AWIC Resources Series #3. Animal Welfare Resources Center, USDA.

Soma, L.R. (1987). Assessment of animal pain in experimental animals. *Laboratory Animal Science*, **37** : 71-74.

Soothill, J.S., Morton, D.B. et Ahmad, A. (1992). The  $HID_{50}$  (Hypothermia Inducing Dose 50) : an alternative to the  $LD_{50}$  for the measurement of bacterial virulence. *International Journal of Experimental Pathology*, **75** : 95-98.

Tomasovic, S.P., Coghlan, L.G., Gray, K.N. et al. (1988). IACUC evaluation of experiments requiring death as an endpoint : a cancer center's recommendations. *Laboratory Animals*, **17** : 31-34.

Toth, L.A. (1997). The moribund state as an experimental endpoint. *Contemporary Topics in Laboratory Animal Science*, **36** (3) : 44-48.

Townsend, P. et Morton, D.B. (1994). Practical assessment of adverse effects and its use in determining humane endpoints. In : *Proceedings of the Fifth FELASA Symposium : Welfare and Science*, June 1993 (ed. J. Bunyan). pp. 19-23. Brighton, UK : FELASA.

Wallace, J., Sanford, J., Smith, M.W. et al. (1990). The assessment and control of the severity of scientific procedures on laboratory animals. *Laboratory Animals*, **24** (2) : 97-130.

Wolfensohn, S. et Lloyd, M. (1994). Recognition of pain and stress in laboratory animals. In : *Handbook of Laboratory Animal Management and Welfare*. Ch. 11. pp. 174-180. Oxford, UK : Oxford University Press.

Wong, J.P., Saravolac, E.G., Clement, J.G. et al. (1997). Development of a murine hypothermia model for study of respiratory tract influenza virus infection. *Laboratory Animal Science* **47** (2) : 143-147.

Workman, P., Twentyman, P., Balkwill, F. et al. (1998). United Kingdom Coordinating Committee on Cancer Research (UKCCCR) Guidelines for the welfare of animals in experimental neoplasia (Second Edition, July 1997). *British Journal of Cancer*, **77** : 1-10.

Zimmermann, M. (1983). Ethical Guidelines for Investigations of Experimental Pain in Conscious Animals. *Pain*, **16** : 109-110.

# COMITÉS RÉGIONAUX D'ÉTHIQUE POUR L'EXPÉRIMENTATION ANIMALE

au 30 juillet 2002

## Comité Aquitaine et Poitou - Charentes

**Président : Pierre CAZALA**  
Laboratoire de neurosciences cognitives – UMR 5106  
Université Bordeaux 1  
Avenue des facultés  
33 405 TALENCE CEDEX  
**Tél. : 05 56 84 87 39**  
[p.cazala@neurocog.u-bordeaux.fr](mailto:p.cazala@neurocog.u-bordeaux.fr)

## Comité Auvergne

**Président : Michel DALLE**  
Physiologie et expérimentation animales  
Université Blaise Pascal  
Complexe universitaire des Cézeaux  
63177 AUBIERE CEDEX  
**Tél. : 04 73 40 74 82**  
[Michel.DALLE@univ-bpclermont.fr](mailto:Michel.DALLE@univ-bpclermont.fr)

## Comité Bretagne

**Président : Virginie VALLET - ERDTMANN**  
U 435 – Université de Rennes1  
Campus de Beaulieu  
Avenue du Général Leclerc  
35042 RENNES  
**Tél. : 02 99 28 69 11**  
[Virginie.vallet@rennes.inserm.fr](mailto:Virginie.vallet@rennes.inserm.fr)

## Comité Centre - Limousin

**Président : Raymond NOWAK**  
INRA – UMR 6073 – Unité de Tours  
37380 NOUZILLY  
**Tél. : 02 47 42 78 16**  
[nowak@tours.inra.fr](mailto:nowak@tours.inra.fr)

## Comité Ile de France sud

**Président : Christophe JOUBERT**  
CEA – DSV – DRR  
BP6  
92265 FONTENAY AUX ROSES  
**Tél. : 01 46 54 94 26**  
[joubert@dsvidf.cea.fr](mailto:joubert@dsvidf.cea.fr)

## Comité Ile de France - Paris – Comité 1

**Président : Lionel LARUE**  
Institut Curie – UMR 146  
Institut Curie, bât. 110, Centre universitaire  
91405 ORSAY CEDEX  
**Tél. : 01 69 86 71 07**  
[larue@curie.u-psud.fr](mailto:larue@curie.u-psud.fr)

## Comité Ile de France - Paris – Comité 2

En cours de constitution

## Comité Ile de France - Paris – Comité 3

**Président : Jérôme YELNIK**  
U 289 – Hôpital de la Salpêtrière  
47 Boulevard de l'Hôpital  
75013 PARIS  
**Tél. : 01 42 16 06 32**  
[Yelnik@ccr.jussieu.fr](mailto:Yelnik@ccr.jussieu.fr)

## Comité Ile de France - Paris – Comité 4

**Président : Marika PLA**  
Institut universitaire d'hématologie  
U 462 – Hôpital Saint Louis  
1 avenue Vellefaux  
75475 PARIS CEDEX 10  
**Tél. : 01 53 72 40 59**  
[Marika.pla@chu-stlouis.fr](mailto:Marika.pla@chu-stlouis.fr)

## Comité Ile de France - Paris – Comité 5

**Président : Cécile GOUJET-ZALC**  
Service d'expérimentation animale et de transgénèse  
7, rue Guy Mocquet – BP 8  
94801 VILLEJUIF  
**Tél. : 02 38 25 54 52**  
[goujet@vjf.cnrs.fr](mailto:goujet@vjf.cnrs.fr)

## Comité Languedoc - Roussillon

**Président : Alain MICHEL**  
UFR de pharmacie  
Avenue Charles Flahault  
34060 MONTPELLIER CEDEX 1  
**Tél. : 04 67 54 83 53**  
[amichel@pharma.univ-montp1.fr](mailto:amichel@pharma.univ-montp1.fr)



### **Comité Midi - Pyrénées**

*Président : Alain PUGET*  
Institut de pharmacologie et de biologie structurale  
205, route de Narbonne  
31077 TOULOUSE CEDEX  
**Tél. : 05 61 17 59 00**  
*alain.puget@ipbs.fr*

### **Comité Nancy – Lorraine – nord - est**

*Président : Jeffrey ATKINSON*  
Université Henri Poincaré – Nancy I  
Faculté de pharmacie  
Laboratoire de Pharmacologie  
24, rue Lionnois – BP 3069  
54013 NANCY CEDEX  
**Tél. : 03 83 17 88 11**  
*Jeffrey.Atkinson@pharma.uhp-nancy.fr*

### **Comité Nice - Côte d'Azur**

*Président : Nicolas GUY*  
Institut de pharmacologie moléculaire et cellulaire  
660, route des Lucioles  
06560 VALBONNE  
**Tél. : 04 93 95 77 77**  
*nicolas.guy@ipmc.cnrs.fr*

### **Comité Nord – Pas - de - Calais**

*Président : Daniel MARZIN*  
Institut Pasteur de Lille  
1, rue du Professeur Calmette  
59019 LILLE CEDEX – BP 245  
**Tél. : 03 20 87 79 14**  
*daniel.marzin@pasteur-lille.fr*

### **Comité Normandie**

*Président : Eric Mac KENZIE*  
Université de Caen  
Centre Cyceron  
Boulevard Henri Becquerel – BP 5229  
14074 CAEN CEDEX 5  
**Tél. : 02 31 47 02 30**  
*mackenzie@cyceron.fr*

### **Comité Pays de la Loire**

*Président : Benoît DENIZOT*  
Université d'Angers  
40, rue de Rennes  
49035 ANGERS CEDEX 01  
**Tél. : 02 41 73 58 46**  
*Denizot@univ-angers.fr*

### **Comité Provence**

*Président : Guy DUBREUIL*  
Station de primatologie – CD 56  
13790 ROUSSET SUR ARC  
**Tél. : 04 42 29 45 50**  
*guy.dubreuil@primato.cnrs.fr*

### **Comité Rhône - Alpes**

*Président : Jean SASSARD*  
Faculté de pharmacie – UMR 5014  
8, avenue Rockefeller  
69008 LYON  
**Tél. : 04 78 77 70 86**  
*sassard@univ-lyon1.fr*

### **Comité Strasbourg**

*Président : Guy SANDNER*  
Faculté de médecine  
ULP – U 405 Inserm  
11, rue Humann  
67085 STRASBOURG  
**Tél : 03 88 11 64 65**  
*sandner@neurochem.u-strasbg.fr*

**Le département  
des sciences de la vie en ligne**

**<http://www.cnrs.fr/SDV/>**

**Sa mise à jour est permanente**

***Directeur de la publication***

**Bernard Pau**

Directeur du département des sciences de la vie  
du CNRS

***Conception***

**Alain Puget**

Chargé de mission auprès du département  
des sciences de la vie du CNRS

***Coordination éditoriale***

**Marie-Pascale Corneloup - Brossollet**

Communication et information scientifique

***Réalisation***

**Service de l'imprimé du CNRS**

***Impression***

**JV Impression**



DÉPARTEMENT SCIENCES DE LA VIE DU CNRS  
3, rue Michel-Ange - 75794 Paris cedex 16  
Téléphone : 33 (0)1 44 96 40 25 - télécopie : 33 (0)1 44 96 49 19  
<http://www.cnrs.fr/SDV/>