

Chapitre II

Animaux de laboratoire

1- Types de modèles animaux employés en recherche biomédicale

Les modèles animaux employés en recherche biomédicale, et particulièrement ceux qui servent à l'étude des maladies et autres affections touchant les humains, peuvent être classifiés comme suit :

1.1- Modèles spontanés ou « naturels » :

Il s'agit de modèles animaux chez lesquels des maladies ou des affections d'origine naturelle sont identiques à celles que l'on retrouve chez l'humain. Le diabète, l'hypertension, l'arthrite et les immunodéficiences en sont quelques exemples.

1.2- Modèles expérimentaux :

Il s'agit de modèles chez lesquels les scientifiques reproduisent expérimentalement une affection ou une maladie. Par exemple, la streptozotocine est une substance chimique qui permet de provoquer le diabète en endommageant les cellules productrices d'insuline dans le pancréas ; il est également possible de provoquer un certain type de cancer à l'aide d'un cancérogène chimique ou de déclencher un accident vasculaire cérébral de façon chirurgicale.

1.3- Modèles génétiquement modifiés :

Il s'agit d'un groupe particulier de modèles animaux dont on a manipulé le code génétique pour provoquer la maladie à étudier. Ces modèles sont créés par l'insertion d'un ADN étranger ou par le remplacement ou la neutralisation ("knock-out") de certains gènes dans le génome des animaux. Ils permettent par exemple l'étude du fondement génétique de certaines maladies, la susceptibilité ou la résistance à celles-ci.

1.4- Modèles négatifs :

Certains animaux sont résistants à une affection ou une maladie donnée. En étudiant les causes de cet état, on peut trouver des indices sur la résistance à la maladie et ses fondements physiologiques. Par exemple, certaines souches de souris sont résistantes à certains agents infectieux tandis que d'autres y sont sensibles.

1.5- Modèles orphelins :

Il s'agit de modèles animaux présentant des affections apparaissant naturellement chez un animal et pour lesquelles il n'existe pas d'équivalent chez l'humain. Autrefois, la tremblante du mouton entrainait dans cette catégorie, mais cette maladie constitue maintenant un modèle utile pour l'étude des encéphalopathies spongiformes humaines dont on entend si souvent parler (ESB ou « maladie de la vache folle » ainsi que de l'encéphalopathie des cervidés qui touche les cerfs).

2- Animaux de laboratoire

Parmi les animaux les plus utilisés on rencontre :

2.1- Souris :

La souris (*Mus musculus*) est l'espèce de choix pour les tests d'immunocompétence in vivo contre les agents infectieux :

Virus : le virus de l'encephalomyocardite EMCV (virus de la famille de *Picornaviridae*)

Bactéries : *Listeria monocytogene*, *Streptococcus pneumoniae*

Parasites : *Trichinella spiralis*

La souris est utilisée aussi pour des tests de réponse aux anticancéreux et l'hypersensibilité cutanée.

2.2- Rat :

Les rats sont le plus souvent de la famille des Muridés, du genre *Rattus* qui regroupe les espèces les plus communes : *Rattus rattus*, le rat noir, et *Rattus norvegicus*, le rat d'égout qui a donné le rat domestique en élevage. Celui utilisé au laboratoire est le rat blanc. Cette espèce est souvent utilisée lors des études toxicologiques, immunologiques et histo-pathologiques. Le rat est utilisé aussi comme modèle dans quelques maladies expérimentales, exemple : la maladie mercurielle expérimentale (Brown Norway).

2.3- Singe :

Le singe est utilisé dans l'évaluation de risque et l'extrapolation des données à l'homme. Exemple, lors de l'étude d'un nouveau médicament. Les espèces les plus utilisées sont : *Macaca mulatta* et *Macaca fascicularis*.

2.4- Cobaye :

Le (*Caviaporcellus*) est utilisé au laboratoire dans les tests cutanés aux xénobiotiques : tests de maximisation (administration des antigènes par voie intradermique) et test de sensibilisation cutanée (antigène administré sur la peau).

2.5- Phoque :

L'utilisation du (*Phocavitulina*) reste limitée. Le phoque est généralement utilisé pour l'analyse des paramètres fonctionnels des cellules immunocompétentes sanguines.

2.6- Oiseaux :

Parmi les oiseaux utilisés le canard. Il est utilisé comme modèle de résistance aux antivirale.

2.7- Poisson :

Ce sont des espèces sentinelles/Biomarqueurs d'immunotoxicité. L'espèce de choix est *Oncorhynchus mykiss*. Les poissons sont aussi utilisés dans les tests d'histopathologie du système immunitaire.

2.8- Ver de terre :

Les vers de terre sont aussi des espèces sentinelles dont : *Lumbricus terrestris* et *Eisenia foetida*. Ces vers sont utilisés dans les études d'immunotoxicité des sols.

3- Etude d'un exemple d'animaux de laboratoire

L'expression « **rat de laboratoire** » désigne des rats appartenant à des lignées sélectionnées et élevés pour des besoins scientifiques. Pour des raisons de prix et de taille et facilité d'élevage, mais aussi à cause de leur génome proche de celui de l'homme, les rats sont les animaux les plus utilisés en expérimentation animale, après la souris.

Malgré leurs apparences variables, les différentes lignées de rats de laboratoire descendent la même espèce sauvage *Rattus norvegicus*, par sélection (exemple le rat *Wistar*).

3.1- Génome du rat :

Rattus norvegicus est le troisième mammifère dont le génome a fait objet de séquençage (après celui de l'homme et de la souris).

Le génome du rat est constitué d'environ 2,75 milliards de paires de bases organisé en 21 chromosomes. Il est plus petit que celui de l'humain (2,9 milliards), mais plus grand que celui de la souris (2,6 milliards) avec lesquels il partage un certain nombre de gènes. Environ 90 % des gènes du rat sont partagés avec l'homme.

Les travaux de séquençage du génome du rat ont révélé que les génomes du rat, de la souris et celui du génome humain codent le même nombre de gènes et que la majorité des gènes ont persisté sans délétion ni duplication depuis le dernier ancêtre commun. Les structures introniques sont bien conservées.

3.2- Caractéristiques générales des rats de laboratoire

Les caractéristiques changent en fonction de lignée sélectionnée par les éleveurs. D'une manière générale, les caractéristiques les plus communes sont les suivantes :

1. **Durée de vie** : 2,5 à 3 ans
2. **Mode de vie** : crépusculaire
3. **Régime alimentaire** : omnivore à tendance granivore (opportuniste)
4. **Poids moyen adulte** : 350 g en moyenne (250 à 500 g pour les femelles, 450 à 700 g pour les mâles)
5. **Taille à l'âge adulte** : 25 cm en moyenne (20 à 28 centimètres à l'âge adulte sans compter la queue)
6. **Longueur de la queue** : 13 à 15 centimètres.
7. **Comportement, intelligence** : Cet animal grégaire est capable d'apprendre et mémoriser, exemple : retrouver un chemin dans un labyrinthe. C'est un animal social. Il est capable de distinguer certaines causes et de les associer à des effets (raisonnement causal). Ce qui en fait aussi un modèle pour l'éthologie ou l'étude de certains neurotoxiques.

Ces rats domestiqués diffèrent significativement des rats sauvages, de plusieurs manières :

1. Ils sont plus calmes, moins agressifs que le rat sauvage.
2. Ils se reproduisent plus tôt, et en produisant une descendance plus abondante.
3. Leurs cerveau, cœur, foie, reins, glandes surrénales sont plus petits.

3.3- Utilisation des rats

Les rats ont été utilisés dans de nombreuses études expérimentales dans le but est d'étudier la physiologie, la pathologie et l'étude de nouveaux médicaments. Voici quelques domaines de la médecine dans lesquels le rat a été utilisé :

- ✓ Chirurgie, anesthésie, désinfection
- ✓ Greffes et transplantations de divers organes
- ✓ Diverses formes de diabète, d'obésité
- ✓ Tumeurs, cancers
- ✓ Certains troubles du comportement et physiologiques
- ✓ Désordres psychiatriques tels que le syndrome de Tourette
- ✓ Certains mécanismes d'addiction, dont neurologiques
- ✓ Hypertension et maladies cardiovasculaires
- ✓ Régénération de neurones
- ✓ Blessure, ulcères fractures
- ✓ Médicaments et diverses thérapeutiques, par ex contre l'épilepsie ou pour soigner des traumatismes du cerveau
- ✓ Toxicologie, pharmacotoxicologie
- ✓ Parasitoses (ex : Malaria)

3.4- Quelques lignées de rats sélectionnées et produites au laboratoire

Il existe aujourd'hui au moins 234 souches consanguines différentes de *Rattus norvegicus*. Ces lignées souches ont été développées (par sélection et/ou mutation dirigée et reproduction consanguine dans les élevages, et laboratoires à partir de mutations apparues par hasard, ou pour répondre à besoins spécifiques.

3.4.1-Wistar :

De nombreuses lignées utilisées aujourd'hui proviennent de cette souche *albinos* « *Wistar* » créée par croisements consanguins à partir de l'espèce *Rattus norvegicus* dans le Wistar Institute à partir de 1906 pour une utilisation en recherche biomédicale. Cette souche de rats a été développée pour produire un organisme modèle pour remplacer la souris de laboratoire (*Mus musculus*).

Le rat *Wistar* est caractérisé par une tête large, de longues oreilles, et ayant une longueur de queue toujours inférieure à celle du corps.



Figure 1 : Rat *albinos wistar*

3.4.2- Lewis :

Ce rat *albinos* tient son nom de celui du Dr Lewis qui l'a développé à partir de la lignée *Wistar* au début des années 1950. Il est docile mais peu fécond. Comme cela est fréquent dans les nouvelles souches consanguines, il exprime spontanément plusieurs pathologies surtout toutes sortes de tumeurs responsables de l'espérance de vie limitée chez ce rat. Les tumeurs les plus fréquentes sont les adénomes de l'hypophyse et les adénomes et/ou adénocarcinomes du cortex surrénalien chez les deux sexes. Les femelles développent de fréquentes tumeurs des glandes mammaires et des carcinomes de l'endomètre. Les mâles développent plutôt des adénomes des cellules parafolliculaires (de la thyroïde) et des adénocarcinomes de la glande thyroïde ainsi que des tumeurs du système hématopoïétique.

Les rats *Lewis* sont susceptibles de développer fréquemment la leucémie lymphoïde chronique spontanée transplantable. Quand ils vieillissent ils peuvent développer la sclérose glomérulaire spontanée.

Les rats *Lewis* sont aussi pour l'optimisation des transplantations, l'étude de l'arthrite induite par inflammation, l'encéphalite allergique expérimentale, et le diabète expérimental induit par la Streptozotocine.

3.4.3- Sprague-Dawley :

Ce rat est obtenu par sélection à partir du rat *Wistar*. C'est une des lignées les plus utilisées au laboratoire à cause de sa capacité de développer spontanément des tumeurs endocrines, cérébrales, hypophysaires, thyroïdiennes, pancréatiques. Les causes en sont inconnues, des mutations spontanées probablement qui rend cette lignée particulièrement sensible à certains agents mutagènes et les perturbateurs endocriniens.



Figure 2: Rat *albinos lewis*

3.4.4- BioBreeding :

Le rat BB est aussi appelés **Biobreeding Diabetes Prone (BBDP)**. Il s'agit d'une lignée consanguine qui développe spontanément le Diabète type 1, une maladie auto-immune fréquente chez l'homme. Le rat BB est donc utilisé dans la recherche de la pathogenèse de cette forme de diabète.

3.4.5- Long-Evans :

Cette souche consanguine a été produite en 1915 par Long et Evans par le croisement de plusieurs femelles *Wistar* avec un mâle sauvage gris. Les rats *Long Evans* sont de couleur blanche avec une tête noire ou une région dorsale brune. Ils sont utilisés comme organisme modèle dans les recherches sur le comportement et l'obésité notamment.



Figure 3: Rat *Long-Evans*

3.4.6- Rat Zucker:

Le rat *Zucker* est produit par sélection des souches présentant des mutations du gène *fa/fa* codant pour le récepteur de la leptine. En raison de cette mutation, le poids peut atteindre 1kg soit plus de deux fois le poids d'un rat. Ces rats développent spontanément une hyperlipidémie et une hypercholestérolémie et sont naturellement résistants à l'insuline. Ces rats sont donc utilisés dans la recherche sur l'obésité et les pathologies qui en sont liées.

3.4.7- Hairless rats :

Ce sont des rats « chauves », dis aussi « nus ». L'absence de poils est le résultat de mutations qui touchent une vingtaine de gènes. Ces rats sont fournis aux laboratoires comme modèles pour le travail sur le système immunitaire et les maladies génétiques rénales.



Figure 3: Rat *Long-Evans*

3.4.8- Les rats « knock-out »:

Les rat kockout sont des mutants créés au laboratoire. Ce sont des rats chez lequel un ou plusieurs gènes ont été désactivés par génie génétique dans le but de créer, chez le rat, des maladies ou malformations connues chez l'homme ou des animaux. Cette mutation est transmissible de génération en génération. Ces modèles « artificiels » sont utilisés dans la recherche médicale et pharmaceutique. Cependant leur nombre et leur espérance de vie restent limités à cause de l'instabilité des animaux.

Des rats-modèles knock-out permettent par exemple d'étudier les mécanismes de la maladie de Parkinson, la maladie d'Alzheimer, l'hypertension et le diabète.

4- Conduites expérimentales standardisées

La manipulation des animaux a fait l'objet de standardisation afin de limiter les erreurs d'interprétation des résultats. Les expériences doivent être les plus reproductibles possibles, dans un environnement contrôlé. Des guides de bonnes pratiques existent pour favoriser ces aspects. Parmi les procédures plus ou moins standardisées lors des expériences on trouve :

1. les mises en quarantaine et la préparation des animaux.
2. la manipulation des animaux.
3. l'alimentation, la boisson.
4. le chauffage, l'éclairage des cages (cycle 12 heures de lumière/12 heures d'obscurité, qui interdit la reproduction des cycles saisonniers, mais permet la comparabilité des études).
5. les soins et diverses procédures répétitives et classiques tendent à être de plus en plus standardisées pour permettre une meilleure comparabilité, quand cela est compatible avec le protocole de l'expérience.
6. les biopsies.
7. les prises de sang ou prélèvement d'échantillons d'autres fluides corporels.
8. les injections (les voies d'administration par injections chez les rats de laboratoire sont principalement sous-cutanées, intrapéritonéales, intraveineuses et intramusculaires).
9. la mise à mort qui doit se faire sans souffrance ou stress supplémentaires ou inutiles dans la mesure du possible.

5- Alimentation

L'alimentation fait aussi objet de standardisation. Le contrôle de l'alimentation permet d'obtenir des résultats expérimentaux reproductibles et sans effets liés aux changements des valeurs nutritives. Dans les cas de besoins, les apports alimentaires peuvent subir des modifications, dans ce cas il est important de signaler ces changements. Selon une étude publiée par les Laboratoire Harlan, son alimentation doit respecter les taux de 14 % de protéines pour 4 % de lipides, pour un rat adulte en bonne santé. La dose quotidienne, donnée à heure fixe, est de 20 grammes environ de nourriture par jour par rat, ceci variant évidemment selon la taille, l'âge et l'activité du rat.

6-Risques liés à l'élevage des animaux de laboratoires

La libération volontaire, accidentelle ou la fuite dans la nature d'animaux issus de certaines souches génétiquement modifiées, ou porteuses de pathogènes dangereux doivent être évitées.

L'élevage, le transport et la destruction des cadavres doivent faire l'objet de précautions particulières qui relèvent tantôt des bonnes pratiques tantôt de la législation (qui peut varier selon les pays).