

## Lignes directrices du CCPA sur : animaux transgéniques (1997)

Le Conseil canadien de protection des animaux (CCPA) veille au soin et à l'utilisation des animaux en recherche, en enseignement et pour les tests. En plus du [Manuel sur le soin et l'utilisation des animaux, Volumes 1 et 2](#), qui énonce les principes généraux relatifs au soin et à l'utilisation des animaux, le CCPA publie également une série de [lignes directrices sur des sujets d'intérêt actuels et futurs](#). Les *Lignes directrices sur les animaux transgéniques*, les secondes de cette série, ont été produites par le Sous-comité scientifique du CCPA. La création et l'utilisation des animaux génétiquement modifiés est un domaine de recherche en pleine évolution, d'où s'ensuivra une révision régulière de ces lignes directrices.

Les lignes directrices suivantes ont été conçues: pour aider les membres des Comités de protection des animaux (CPA) et les chercheurs à évaluer les aspects éthiques et technologiques de projets impliquant la création, le soin et l'utilisation des animaux transgéniques; pour s'assurer que les animaux transgéniques sont utilisés conformément à la déclaration de principe du CCPA sur [Les principes régissant la recherche sur les animaux](#); et pour s'assurer que l'environnement et le bien-être des Canadiens soient protégés.

Par définition, l'expression *animal transgénique* se rapporte à un animal dont le génome - matériel responsable des caractères héréditaires - a délibérément été modifié par opposition à la mutation spontanée (FELASA, septembre 1992, révision février 1995). Depuis 1981, date à laquelle le terme «transgénique» fut introduit pour la première fois par J.W. Gordon et F.H. Ruddle, les animaux créés génétiquement sont devenus des sujets de recherche de plus en plus importants.

Les animaux transgéniques sont utilisés: en biologie, lors d'études fondamentales sur la régulation des éléments génétiques; en recherche médicale, pour identifier les fonctions de facteurs connus dans des systèmes homéostatiques complexes par surexpression ou sous-expression d'un gène, en tant que modèles pour les maladies humaines; en tant qu'animaux particulièrement sensibles à certains tests de toxicologie; en biotechnologie, dans la production de protéines spécifiques; ainsi qu'en agriculture et en aquaculture, dans l'amélioration de la viande et des produits d'origine animale. Cette liste est non-exhaustive; en effet, l'utilisation des animaux transgéniques semble devoir s'intensifier dans le futur.

Trois méthodes sont essentiellement utilisées dans la production d'animaux transgéniques: la microinjection d'ADN; le transfert de gène à l'aide de rétrovirus; et le transfert de gène à l'aide de cellules souches embryonnaires (cellules ES). La microinjection d'ADN est la première méthode à avoir été développée et fournit le principe sous-jacent aux deux autres méthodes. L'ADN introduit peut entraîner la surexpression ou la sous-expression de certains gènes, ou même l'expression de nouveaux gènes. L'intégration du gène introduit dans l'ADN hôte, accomplie par la microinjection d'ADN dans le pronucléus d'un ovocyte fécondé, est un processus aléatoire si bien que le gène introduit ne s'insérera pas nécessairement dans le site devant favoriser son expression. Ainsi d'autres méthodes ont été établies dont le transfert à l'aide d'un vecteur et la recombinaison homologue, afin d'accroître la probabilité d'expression. Les rétrovirus sont communément utilisés comme vecteurs de transfert du matériel génétique dans la cellule. La troisième méthode repose sur la recombinaison homologue de l'ADN, ce qui permet un ciblage précis des sites de l'ADN dans les cellules souches embryonnaires. Si la séquence homologue devant être introduite dans la cellule est porteuse d'une mutation, ou d'un gène d'une autre espèce animale, la

nouvelle séquence remplacera le gène spécifique ciblé. Cette procédure est la méthode de choix pour inactiver un gène, méthode nommée «knock-out» (invalidation du gène par recombinaison homologue), et revêt une importance particulière dans l'étude du contrôle génétique des processus développementaux.

Les animaux transgéniques se révèlent être, pour le chercheur, un outil extrêmement puissant dans le développement de modèles de maladies humaines, étant donné que les mécanismes de régulation des gènes sont de mieux en mieux compris. De plus, l'utilisation de modèles de souris transgéniques reproduisant assez bien les maladies humaines peut prévenir la nécessité d'utiliser des animaux comme modèles. Avec le temps, la plus grande spécificité des modèles peut également mener à une réduction du nombre d'animaux utilisés. La modification génétique d'animaux domestiques pour la production économique et efficace de protéines pharmaceutiques importantes peut également être perçue comme étant profitable à la santé humaine.

Parallèlement au développement de la technologie transgénique, son utilisation a soulevé des questions éthiques. Ces dernières couvrent un large éventail du bien-être animal à la santé humaine et aux questions environnementales. En font également partie l'inconfort de l'animal provoqué par l'expression des transgènes induisant des tumeurs, des maladies neuro-dégénératives ou autres, la possibilité que des animaux transgéniques s'échappent dans l'environnement, sans mentionner la possibilité de modifier le génome humain.

Les protocoles de production et d'utilisation des animaux transgéniques doivent être révisés en tenant compte de toutes les considérations mentionnées dans les [Lignes directrices: révision de protocoles d'utilisation d'animaux d'expérimentation](#) du CCPA. Cependant, il importe d'examiner attentivement les procédures impliquées et particulièrement les problèmes éventuels de bien-être pour la descendance, d'après les protocoles de création des animaux transgéniques. À cet effet, les lignes directrices demandent également que soit remplie une [Fiche d'information sur les animaux transgéniques](#) (annexe) avec la soumission du protocole.

En appliquant ces lignes directrices, les CPA et les chercheurs examinant le bien-être des animaux dans l'étude proposée devront considérer les caractéristiques particulières de chacune des souches transgéniques. Ils devront, de plus, être sensibilisés aux questions éthiques et au courant des changements technologiques de ce domaine en pleine croissance. Le CCPA prévoit modifier les lignes directrices parallèlement à l'évolution de ce secteur d'activités.

- **Les responsabilités du chercheur et du Comité de protection des animaux**

- a. **Éducation**

- Le CPA a la responsabilité de s'assurer que tous ses membres sont informés des aspects éthiques et technologiques de l'utilisation des animaux transgéniques. À cette fin, une courte bibliographie est incluse en annexe. Il est également recommandé aux chercheurs demandant l'approbation du CPA pour des projets impliquant la création et/ou l'utilisation d'animaux transgéniques d'être sensibilisés aux considérations éthiques ainsi que d'être prêts à justifier la valeur de leurs travaux.

## b. Projets pour la création de nouvelles souches transgéniques

- i. Les procédés standards pour créer des animaux transgéniques peuvent être évalués par les CPA de la même manière que toute autre procédure chirurgicale.
- ii. Dans la révision des projets relatifs à la création de nouveaux animaux transgéniques, les CPA devraient s'assurer que:
  - o le chercheur peut, au besoin, obtenir une assistance technique qualifiée, et qu'il possède suffisamment d'expérience pour documenter les diverses étapes d'une colonie d'élevage;
  - o les détails des procédures chirurgicales, de l'hébergement et de l'entretien de la colonie ont été étudiés et approuvés par la direction de l'animalerie;
  - o le chercheur et le personnel chargé de la surveillance quotidienne de la colonie d'animaux transgéniques sont familiers avec les signes de détresse spécifiques à l'espèce utilisée;
  - o un système de contrôles fréquents, efficaces, minutieux et documentés ait été établi dans le but de détecter les anomalies anatomiques, physiologiques et/ou comportementales qui pourraient causer de la détresse chez les animaux;
  - o les paramètres définissant la viabilité des animaux transgéniques soient clairement décrits.

Des procédés normalisés de fonctionnement (PNF) peuvent être établis afin de traiter de ces problèmes.

- iii. Les projets impliquant la création ou l'utilisation d'animaux transgéniques devraient inclure des détails sur le phénotype attendu ([tel qu'indiqué dans l'annexe](#)), de même qu'une indication des niveaux anticipés de douleur et/ou de détresse chez l'animal transgénique et les mesures qui seront prises afin de soulager la douleur ou l'inconfort, ainsi que des détails sur le système de contrôle nécessaire.
- iv. Les projets visant à créer de nouveaux animaux transgéniques devraient être [classifiés au niveau «D» des catégories de techniques invasives du CCPA](#). Toute approbation de ce type de protocole devrait être provisoire et uniquement valable pour une période de 12 mois maximum; l'approbation doit également être conditionnelle à ce que le chercheur prépare, dès que possible, un rapport pour le CPA sur le phénotype des animaux, et plus particulièrement sur tout signe de douleur ou de détresse.

Après avoir reçu le rapport du chercheur, le CPA peut confirmer son approbation du projet et modifier, au besoin, la catégorie de techniques invasives. Toutefois, s'il est apparent que les animaux sont sujets à une douleur ou un inconfort non anticipés, le CPA demandera au chercheur de fournir un protocole révisé qui vise à minimiser toute douleur ou tout inconfort, puis le comité réévaluera l'approbation du projet.

**c. Projets impliquant l'utilisation de souches transgéniques existantes**

- i. Un projet sur les animaux transgéniques peut compter deux parties: la création des animaux transgéniques et la manipulation expérimentale subséquente de ceux-ci. À l'exception des cas où les animaux transgéniques nouvellement créés sont seulement observés, puis euthanasiés, les projets de création et d'utilisation devraient être considérés sous forme de protocoles distincts.
- ii. Lors de la révision des protocoles d'utilisation, les CPA devraient prendre en considération le fait que des procédures qui sont acceptables chez les animaux non-transgéniques ne le sont pas nécessairement chez les animaux transgéniques où un phénotype modifié peut imposer des stress supplémentaires.
- iii. Les protocoles impliquant l'utilisation de souches transgéniques existantes devraient aussi inclure l'information demandée dans l'annexe.

**d. Nombre d'animaux utilisés**

- i. Les estimés de tous les animaux qui seront générés ou utilisés lors d'une étude transgénique devraient être indiqués dans les protocoles soumis au CPA, et devraient être énumérés selon les catégories d'utilisation (par ex., donneuses d'oocytes, fausses grossesses, «étalons», animaux transgéniques avec le phénotype attendu, etc.).
- ii. Pour remplir la *Fiche d'utilisation des animaux d'expérimentation* aux fins de statistiques annuelles du CCPA sur l'utilisation des animaux, les chercheurs devraient inscrire séparément les animaux transgéniques et les animaux non-transgéniques dans la colonne «Espèces».
- iii. Afin de réduire les nombres d'animaux utilisés, le CCPA encourage, lorsqu'il est possible de le faire, le transfert d'animaux non-transgéniques, générés lors du processus de création d'animaux transgéniques, à d'autres protocoles approuvés par le CPA. Les hétérozygotes asymptomatiques doivent être identifiés clairement et ne devraient être utilisés à des fins d'élevage que lorsque le chercheur est conscient de leur génotype modifié. La direction de l'animalerie doit veiller à ce que les animaux transférés d'un protocole d'animaux transgéniques à un autre protocole ne soient pas comptés deux fois dans les statistiques annuelles.

**e. Confinement**

- i. Un chercheur soumettant un protocole visant la création ou l'utilisation d'animaux transgéniques doit démontrer au CPA que les risques possibles au niveau de la santé humaine et/ou de l'environnement sont contrôlés de manière acceptable. Pour les animaux transgéniques créés par micro-injection ou à l'aide de virus ne pouvant se répliquer, les risques relatifs au confinement sont limités aux risques associés à l'évasion de l'animal et à la possibilité de reproduction avec des animaux sauvages. Les protocoles devraient inclure de l'information sur:
  - o le confinement et les procédures associées à la sécurité dans l'animalerie, et, au besoin, lors du transport si les animaux proviennent de l'extérieur;
  - o les plans pour la capture d'animaux évadés, si le confinement s'avère ne pas être suffisamment efficace;

- o les conséquences pour la santé humaine ou pour les animaux sauvages si le confinement faisait défaut.
    - ii. Pour les espèces utilisées communément lors d'études sur les animaux transgéniques, chaque animalerie devrait avoir des PNF pour le confinement de ces animaux, auxquels les chercheurs pourront faire référence lors de la rédaction de leurs protocoles.
    - iii. Le CPA devrait demander au comité institutionnel des biorisques de réviser tout projet qui soulève des questions de risques biologiques.
  - f. **Autres réglementations**
    - i. L'approbation d'un protocole par le CPA ne dégage pas le chercheur de la responsabilité d'avoir à suivre les réglementations des autres agences gouvernementales. Par exemple, Pêches et Océans Canada doit approuver toute création de souche de poissons transgéniques. L'approbation du comité des biorisques sera aussi parfois nécessaire pour certains protocoles.
- **Responsabilités du CCPA**
  - a. **Éducation**

Le CCPA révisera, au moins tous les deux ans, la bibliographie sur les aspects éthiques et techniques de l'utilisation des animaux transgéniques, qui sera distribuée aux membres des CPA. Celle-ci inclura des références utiles à tous les membres.
  - b. **Inventaire des animaux utilisés**

Dans ses statistiques annuelles sur l'utilisation des animaux, le CCPA inclura un total par espèce des souches d'animaux transgéniques.

*Le 5 février 1997*

## Remerciements

*Le Conseil canadien de protection des animaux (CCPA) tient à remercier le Drs Michael Coughlin, Barbara Vanderhyden et Roger Balk pour leurs révisions des versions préliminaires de ces lignes directrices.*

### Ouvrages recommandés

AMSTISLAVSKY, S., AMSTISLAVSKAYA, T., STEIN, M., MAKSIMOVSKY, L.F., MARTEL A.L., TERNOVSKAYA, Y.G. *et al.* (1996). Embryo cryobanking for conserving laboratory and wild animal species. *Scandinavian Journal of Laboratory Animal Science* **23**:269-277.

BAINS, W. (1993). *Biotechnology from A to Z*, 358 pp. New York, NY: Oxford University Press.

BRADLEY, A. *et al.* (1984). Formation of germ line chimeras from embryo-derived teratocarcinoma cell lines. *Nature* **309**:255-256.

BRINSTER, R. (1974). The effect of cells transferred into mouse blastocyst on subsequent development. *Journal of Experimental Medicine* **140**:1049-1056.

CHARLES RIVER LABORATORIES (1991). *Transgenic animal science: Principles and methods. Technical Bulletin*, 7 pp.

CLOSE, W.J., DOSSETOR, J.B., NEIL, D.H., MACKENZIE, J.C., MCGANN, L.E. and RIPLEY, J.J. (1995). Report of the Ethics Subcommittee, University of Alberta (University Animal Policy and Welfare Committee), 17 pp.

CONSEIL CANADIEN DE PROTECTION DES ANIMAUX (1993). [Manuel sur le soin et l'utilisation des animaux d'expérimentation. Volume 1, 2e éd.](#), 232 pp. Ottawa (ON): CCPA.

DE TOLLA, L.J., STUMP, K.C. and ALLEN, E.D. (1994). Transgenic animal care and treatment. *Lab Animal* **23**:24-25.

DONNELLY, S., MCCARTHY, C.R. and SINGLETON, R. Jr. (1994). The Brave New World of Animal Biotechnology, Hastings Center Report. Special Suppl. **24**:31.

FEDERATION OF EUROPEAN LABORATORY ANIMAL SCIENCE ASSOCIATIONS (FELASA) (1995). *Transgenic Animals - Derivation, Welfare, Use and Protection*. September 1992, revised February, p. 3-6.

FIRST, N. and FLORENCE, P. eds. (1988). *Proceedings of the Symposium on Transgenic Technology in Medicine and Agriculture*. Transgenic Animals, 358 pp. Haseltine Butterworth-Heinemann.

GOLDSWORTHY, T., RECIO, L., BROWN, K., DONEHOWER, L., MIRSALIS, J., TENNANT, R. *et al.* (1994). Transgenic animals in toxicology. *Fundamental Applications in Toxicology* **22**:8-19.

- GORDON, J.W. (1988). State of the art: transgenic animals. *ILAR* (Institute for Laboratory Animal Resources) *News* **XXX**:8.
- GORDON, J.W. (1989). Transgenic Animals. *International Review of Cytology* **115**:171-230.
- GORDON, J.W. (1996). Transgenic technology and its impact on laboratory animal science. *Scandinavian Journal of Laboratory Animal Science* **23**:235-249.
- GORDON, J.W. (1997). Transgenic technology and laboratory animal science. *ILAR* (Institute for Laboratory Animal Resources) *Journal* **38**:32-41.
- GORDON, J.W. and RUDDLE, F.H. (1981). Integration and stable germ line transformation of genes injected into mouse pronuclei. *Science* **214**:1244-1246.
- GORDON, J.W., SCANGOS, G.A., PLOTKIN, D.J., BARBOSA, J.A. and RUDDLE, F.H. (1980). Genetic transformation of mouse embryos by microinjection of purified DNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **77**:7380-7384.
- GOSSLER, A. et al. (1986). Transgenesis by means of blastocyst-derived embryonic stem cell line. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **83**:9065-9069.
- GRIDLE, T., SORIANO, P. and JAENISCH, R. (1987). Insertional mutagenesis in mice. *Trends in Genetics* **3**:162-166.
- HAMMER, R.E., PURSEL, V.G., REXROAD, C.E., WALL, R.J., BOLT, D.J., EBERT, K.M. et al. (1985). Production of transgenic rabbits, sheep and pigs by microinjection. *Nature* **315**:413-416.
- HOGAN B., BEDDINGTON, R., COSTANTINI, F. and LACY, E. (1994). Manipulating the mouse embryo - a laboratory manual, 2nd edn., 497 pp. Cold Spring Harbor: Laboratory Press.
- JAENISCH, R. (1976). Germ line integration and mendelian transmission of the erogenous moloney leukemia virus. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **73**:1260-1264.
- JAENISCH, R. (1988). Transgenic animals. *Science* **240**:1468-74.
- JAENISCH, R. and MINTZ, B. (1974). Simian virus 40 DNA sequences in DNA of healthy adult mice derived from preimplantation blastocysts injected with viral DNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **71**:1250-1254.
- KARLSTROM, O. and JENSEN, A. (1989). Transgenic mice: A powerful tool for basic research. *Scandinavian Journal of Laboratory Animal Science* **16**:49-65.
- KRYSPIN-SORENSEN, I. (1991). The application of transgenic techniques to common domestic animals and fish. *Scandinavian Journal of Laboratory Animal Science* **18**:81-89.
- MACER, D.R.J. (1990). Shaping genes: Ethics, law and science of using genetic technology in medicine and agriculture. Eubios Ethics Institute, 421 pp.
- MAJZOUB, J.A. and MUGLIA, L.J. (1996). Molecular medicine - knockout mice. *The New England Journal of Medicine* **344**:904-907.

- MEYER, O. (1993). Implications of animal welfare on toxicity testing. *Human Experimental Toxicology* **12**: 516-521.
- MINTZ, B. and ILLMENSEE, K. (1975). Normal genetically mosaic mice produced from malignant teratocarcinoma cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **72**: 3585-3589.
- MOORE, C.J. and MEPHAM, T.B. (1995). Transgenesis and animal welfare. *ATLA* **23**: 380-397.
- Naquet, R. (1993). Ethical and moral considerations in the design of experiments. *Neuroscience* **57**: 183-189.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL (1996). Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. Institute of Laboratory Animal Resources (ILAR), Commission on Life Sciences, 125 pp. Washington, DC: National Academy Press.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL (1996). Rodents - Laboratory Animal Management, p. 147-157. Washington, DC: National Academy Press.
- PAUL, M., WAGNER, J., HOFFMANN, S., URATA, H. and GANTEN, D. (1994). New experimental models for the study of candidate genes in hypertension research. *Animal Review of Physiology* **56**: 811-829.
- POOLE, T.B. (1995). Welfare considerations with regard to transgenic animals. Universities Federation for Animal Welfare (UFAW). *Animal Welfare* **4**: 81-85.
- PREECE, R. and CHAMBERLAIN, L. (1993). Animal Welfare and Human Values, 339 pp. Waterloo, ON: Wilfrid Laurier University Press.
- PURSEL, V.G., PINKERT C.A., MILLER K.F., BOLT D.J., CAMPBELL R.G., PALMITER, R.D. *et al.* (1989). Genetic engineering of livestock. *Science* **244**: 1281-1288.
- ROLLIN, B.E. (1995). Transgenic animals. In: *The Experimental Animal in Medical Research*, 2nd edn., Vol. II, Ch. 22, p. 511-523. Boca Raton: CRC Press.
- ROLLIN, B.E. (1995). *The Frankenstein Syndrome - Ethical and Social Issues in the Genetic Engineering of Animals*. Cambridge studies in philosophy and public policy, 241 pp. Cambridge, UK: Cambridge University Press.
- RUSCONI, S. (1991). Transgenic regulation in laboratory animals. *Experientia* **47**: 866-877.
- RUSSELL, W.M.S. and BURCH, R.L. (1959). *The Principles of Humane Experimental Technique*, 238 pp. Potters Bar, Herts, UK: Universities Federation for Animal Welfare (UFAW), Special Edition (1992).
- SANDØE, P., FORSMAN, B. and KORNERUP, H.A. (1996). Transgenic animals: The need for ethical dialogue. *Scandinavian Journal of Laboratory Animal Science* **23**: 279-285.
- SHUMAN, R.M. (1991). Production of transgenic birds. *Experientia* **47**: 897-905.
- TENNANT, R., HANSEN, L. AND SPALDING, J. (1994). Gene manipulation and genetic toxicology. *Mutagenesis* **227**: 171-174.



THOMPSON, P.B. (1993). Genetically modified animals: Ethical issues. *Journal of Animal Science* **71**, Suppl. 3:51-56.

VAN ZUTPHEN, L.F.M. and VAN DER MEER, M. (1997). Welfare Aspects of Transgenic Animals. Proceeding EC-Workshop of October 30, 1995, 119 pp. Berlin, Heidelberg, New York: Springer-Verlag.

WEBSTER, J. (1994). Animal Welfare - A Cool Eye Towards Eden, 273 pp. Oxford, UK: Blackwell Science Ltd.

## ANNEXE

### Fiche d'information sur les animaux transgéniques

1. Espèce : \_\_\_\_\_  
Souches d'origine : \_\_\_\_\_  
H Hétérozygotes : \_\_\_\_\_  
et/ou  
homozygotes : \_\_\_\_\_
2. Animaux devant être hébergés dans la pièce \_\_\_\_\_.
3. Quel est le profil de santé de la colonie d'origine? Veuillez fournir le rapport de sérologie le plus récent.
4. Quelles caractéristiques connues peuvent affecter la reproduction et l'espérance de vie?
5. Quelles sont les anomalies déjà repérées (ou que vous anticipez) chez ces animaux?
6. Dans le cas où vous anticipez que ces anomalies induisent une douleur ou une détresse, comment soulagerez-vous ou minimiserez-vous celle-ci?
7. Décrivez les méthodes de surveillance et de documentation que vous allez utiliser pour détecter les anomalies physiques ou comportementales pouvant être des signes de douleur ou de détresse.
8. Quels seront les critères objectifs utilisés pour déterminer si un animal doit être retiré prématurément de l'étude?
9. Si le confinement biologique s'avère nécessaire, veuillez en donner les raisons et spécifier le niveau de confinement. Décrivez vos procédures de confinement et de sécurité. Quelles mesures prendriez-vous en cas de brèche dans le confinement? Y aura-t-il des risques pour la santé humaine, les populations d'animaux sauvages ou pour l'environnement en général si le confinement faisait défaut?
10. Lors de la création d'une nouvelle souche transgénique, veuillez inclure un échéancier relatif à ce processus et indiquer la date approximative de la présentation au CPA d'un rapport sur le phénotype obtenu.

**Note:** Les points énoncés dans cette liste peuvent être déjà mentionnés dans le formulaire de protocole habituel du CPA, et n'ont donc pas besoin d'être répétés. Lorsque des procédés normalisés de fonctionnement ont été élaborés par l'institution (par ex., pour le confinement), il est indiqué de s'y reporter.