

Les animaux : nos héros de laboratoire!

Quand on pense aux souris, on pourrait d'abord penser au mythe de la petite souris ou encore aux nuisibles, mais elles ont également servi à préserver vos poumons ! Ceci a été possible grâce à l'expérimentation animale. L'expérimentation animale correspond à l'ensemble des méthodes et expérimentations scientifiques comprenant un animal pour tester des hypothèses (1). Elle nous concerne car elle est indispensable à la santé humaine et animale. Grâce à celle-ci, on a pu découvrir de nombreux médicaments, vaccins, techniques de chirurgie et thérapies pour l'Homme ainsi que pour les animaux comme les chiens, chats et animaux d'élevage. On retrouve parmi les plus célèbres expériences, celles qui ont permis de mettre en lumière un bien célèbre antibiotique : la pénicilline. Après que Fleming l'ait découvert fortuitement en 1928, sa découverte suscitait de l'indifférence (2). Ce n'est qu'en 1939 que Howard Florey et Ernst Chain ont continué ces expériences sur des rongeurs pour s'assurer de la sécurité et de l'efficacité de la pénicilline pour la production de masse (3). Depuis, ce sont des millions de vies qui ont été sauvées et qui continuent d'être sauvées grâce aux antibiotiques. Merci les souris !

Mais à quoi correspond exactement l'expérimentation animale ? Est-elle vraiment correctement réglementée ? Les animaux sont-ils bien traités ? Les chercheurs se préoccupent-ils du bien-être des animaux ? Quels sont les animaux les plus utilisés pour les expériences ? Existe-t-il vraiment des alternatives à l'expérimentation animale ? C'est à ces questions que nous allons répondre dans ce texte.

Le rôle des souris dans une expérience

Comme vu précédemment, les souris ont permis de s'assurer de la sûreté et de l'efficacité de la pénicilline. Mais qu'est-ce que la pénicilline ? La pénicilline est le premier antibiotique utilisé contre les infections bactériennes. Cette molécule inhibe des molécules de la paroi des bactéries et leur croissance avec peu d'effets toxiques sur notre système de défense (4).

Près de 100 ans se sont écoulés depuis la découverte de la pénicilline, et de nombreuses bactéries sont devenues résistantes à cet antibiotique (5). Cela signifie qu'elles ont trouvé un moyen de survivre en présence de ce médicament. Malheureusement, ce phénomène se produit pour de nombreux autres antibiotiques. On parle ainsi de résistance bactérienne. Ainsi, il pourrait y avoir des millions de morts dus à la résistance bactérienne en 2050 selon l'OMS. Depuis les années 80, peu de nouveaux antibiotiques ont été découverts (6). De nouveaux antibiotiques sont actuellement testés sur les souris et pourraient résoudre ce problème.

Dans la deuxième partie de l'étude, ils ont évalué l'effet bactéricide des deux antibiotiques chez les souris infectées. Pour ce faire, ils ont comparé le nombre de bactéries au moment de l'infection et après vingt-quatre heures. Ils ont ainsi déterminé que les deux antibiotiques réduisaient le nombre des deux bactéries. Cependant, pour *Streptococcus*

pneumoniae, comme montré sur la Figure 1, la réduction était plus importante en traitant par la garénoxacine que par la lévofloxacine.

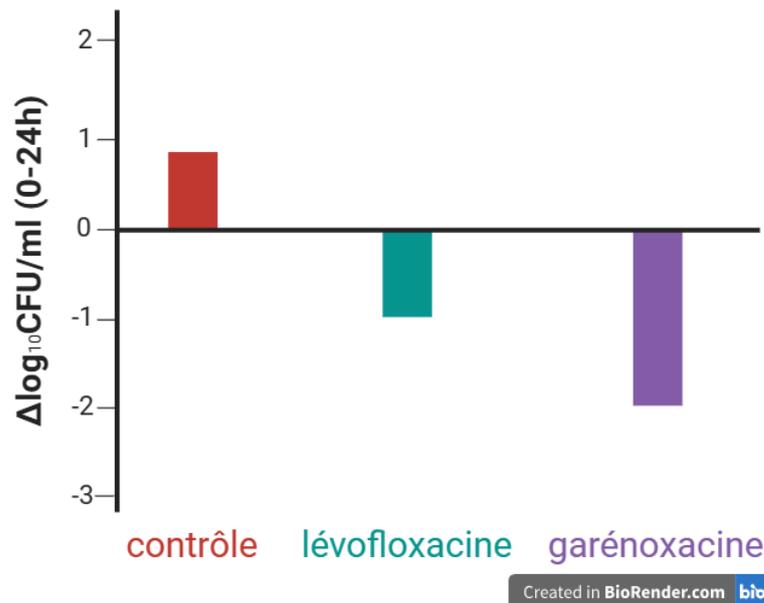


Figure 1 : Diminution du nombre de bactéries *Streptococcus pneumoniae* lorsqu'elles sont traitées par un des deux antibiotiques. Adapté de (8). L'axe vertical correspond à la différence entre le nombre de bactéries au moment de l'infection et après vingt-quatre heures.

Cette étude montre que la garénoxacine est plus efficace que la lévofloxacine dans le modèle infecté utilisé. La garénoxacine pourrait donc être utile pour soigner certaines pneumonies multi-espèces chez l'humain (8).

L'innocuité des nouveaux médicaments doit être testée sur des modèles animaux.

La commercialisation d'un médicament est une longue épopée qui nécessite des moyens et du temps. Ces étapes sont résumées dans la figure 2 ci-dessous. Tout d'abord, avant la conception d'un médicament, a lieu la recherche fondamentale. Celle-ci consiste en l'amélioration des connaissances du fonctionnement normal ou pathologique des êtres vivants. En fonction du domaine de recherche (biochimie, neurologie, microbiologie, physiologie,...), les techniques vont être différentes mais impliquent généralement l'utilisation de modèles animaux tel que les souris. Cette recherche fondamentale a pour but de comprendre les mécanismes biologiques et pas de commercialiser un composé. Celle-ci est réalisée dans les universités et centres de recherches. Les connaissances sont en constante évolution et se basent sur les précédentes car les résultats venus de celle-ci sont en diffusion et en libre accès dans la communauté scientifique (9). L'expérimentation animale est principalement utilisée en recherche fondamentale (53.07%) et en recherche clinique (19.75%). La recherche fondamentale a notamment permis la découverte du parasite causant la malaria en 1898 sur des moustiques et la découverte de la vitamine C en 1912 sur des cochons d'Inde (10).

Par la suite, on parle de recherche et développement. Des entreprises pharmaceutiques, en grande partie en collaboration avec les centres de recherche, vont sur base des résultats obtenus grâce à la recherche fondamentale, choisir une cible impliquée dans une maladie, leur but étant le développement d'un médicament. Pour ce faire, ils vont tester des milliers de composés en utilisant d'abord des modèles informatiques et des techniques *in vitro*, telles que la culture cellulaire pour choisir ceux qui répondent le mieux à

leurs attentes (11). L'étape suivante est la recherche préclinique qui a pour objectif de déterminer la sûreté du produit. Ici interviennent les modèles animaux. C'est à dire que la molécule est testée sur des animaux avant de pouvoir être testée chez les malades (l'Homme ou les animaux).

À lieu ensuite le développement clinique sur des humains en trois phases. D'abord, un protocole est soumis à un comité d'éthique qui doit le valider. La phase 1 concerne d'abord peu de participants et leur nombre augmente au fur et à mesure des phases (jusqu'à la phase 3, finale). Tous ces essais doivent respecter des normes européennes (éthiques et scientifiques). Les données sont ensuite récoltées et envoyées aux agences réglementaires de Belgique et d'Europe (Agence fédérale des médicaments et des produits de santé et l'Agence européenne des médicaments) qui vont valider le médicament en fonction de sa sûreté et son efficacité. S'il est approuvé, il est alors commercialisé avec vigilance (12). Le processus prend ainsi en moyenne douze ans qui vont de la découverte de la molécule à la mise sur le marché (13).

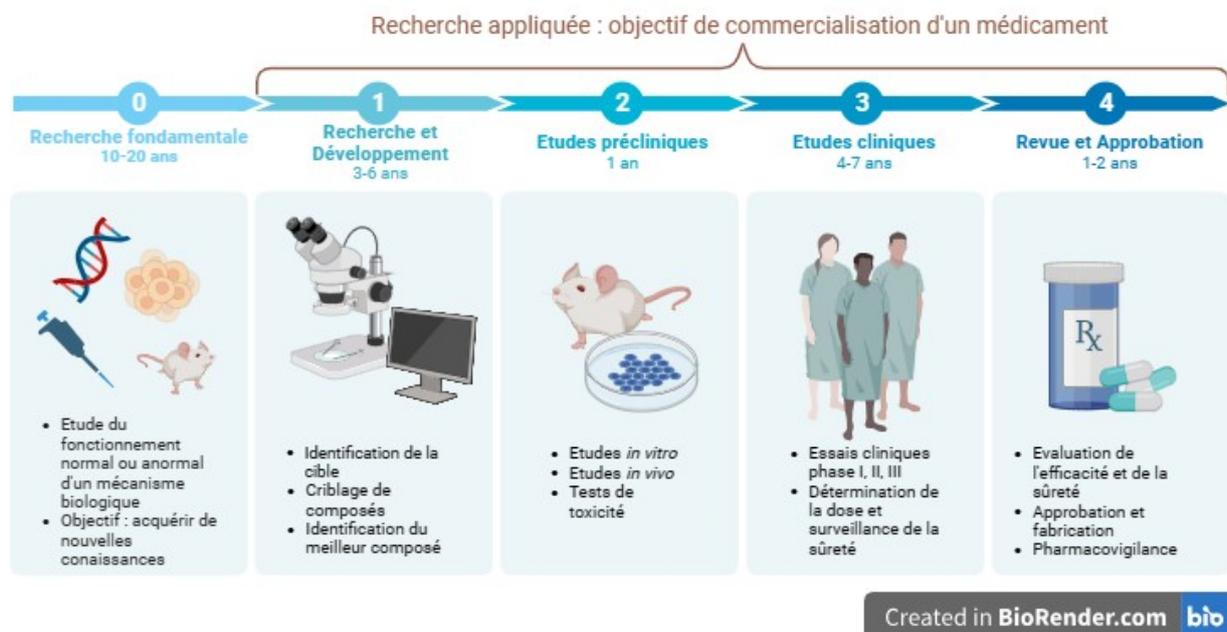


Figure 2 : Les différentes étapes de recherche et de développement d'un médicament. Traduit et inspiré du template Biorender "the drug discovery process" créé par Eunice Huang.

Quelles sont les espèces utilisées dans les expériences sur les animaux ?

Un organisme-modèle est une espèce animale choisie dans le but d'avoir une représentation simplifiée des phénomènes observés chez l'Homme. Les organismes modèles les plus couramment utilisés sont décrits dans le Tableau 1, ainsi que quelques exemples d'avancées dans la recherche obtenues avec ces modèles.

Tableau 1 : Quelques découvertes grâce aux organismes modèles

Organismes modèles	Quelques découvertes
<p>Souris (60,7%) (14)</p> 	<ul style="list-style-type: none"> - Poliomyélite (15) - Maladie d'Alzheimer (16) - Développement des antibiotiques (17) - Coronavirus (17) - Cancers (17) - Diabète - Obésité - Maladies du foie - Maladies neurodégénératives
<p>Poissons zèbre (10,5%) (14)</p> 	<ul style="list-style-type: none"> - Tuberculose (18) - Problèmes liés à l'alcool pendant la grossesse (18) - Cancer - Diabète
<p>Rats (8,7%) (14)</p> 	<ul style="list-style-type: none"> - Obésité (15) - Inflammation abdominale (15) - Infection du sang (15) - Cancer (15) - Problèmes gastriques (15) - Transplantations d'organes (15) - Cicatrisation des plaies (15)
<p>Lapins (9,1%) (14)</p> 	<ul style="list-style-type: none"> - Vaccins contre cancer du col de l'utérus (19) - Inflammation intestinale (18) - Biologie vasculaire (18) - Transplantations (18)
<p>Drosophila Melanogaster (mouche) (20)</p> 	<ul style="list-style-type: none"> - Maladies neurodégénératives (20) - Cancer (20) - Maladies cardiovasculaires (20) - Maladies infectieuses (20)
<p>Caenorhabditis elegans (petit ver) (21).</p> 	<ul style="list-style-type: none"> - Maladie d'Alzheimer (21) - Maladie de Huntington (21)

Les proportions d'animaux reprises dans le tableau sont celles de la France en 2021 (14). En ce qui concerne la drosophile et le nématode aucun chiffre n'est disponible car ils ne sont pas considérés comme des animaux de laboratoire.

Pourquoi les souris sont-elles les plus populaires ?

En tant que mammifère, la souris joue un rôle clé dans de nombreux aspects de la recherche biomédicale et, par conséquent, dans les progrès scientifiques et médicaux. Dans l'UE, elle représente plus de la moitié (52,5 %) du nombre total d'animaux utilisés (22). Alors, pourquoi les souris et pas d'autres organismes modèles ?

En recherche biomédicale, il existe plusieurs raisons importantes pour lesquelles les souris sont largement utilisées. Les souris souffrent d'un grand nombre de maladies humaines et possèdent les mêmes types d'organes et de systèmes corporels, ce qui en fait d'excellents modèles pour étudier ces maladies (22). Malgré les différences en taille et en apparence, les souris partagent des gènes, qui correspondent à des segments d'ADN fonctionnels semblables avec les humains (23). 90 % des gènes humains ont un équivalent chez la souris, permettant d'étudier leur fonctionnement et leur implication dans des maladies (Figure 3) (24).

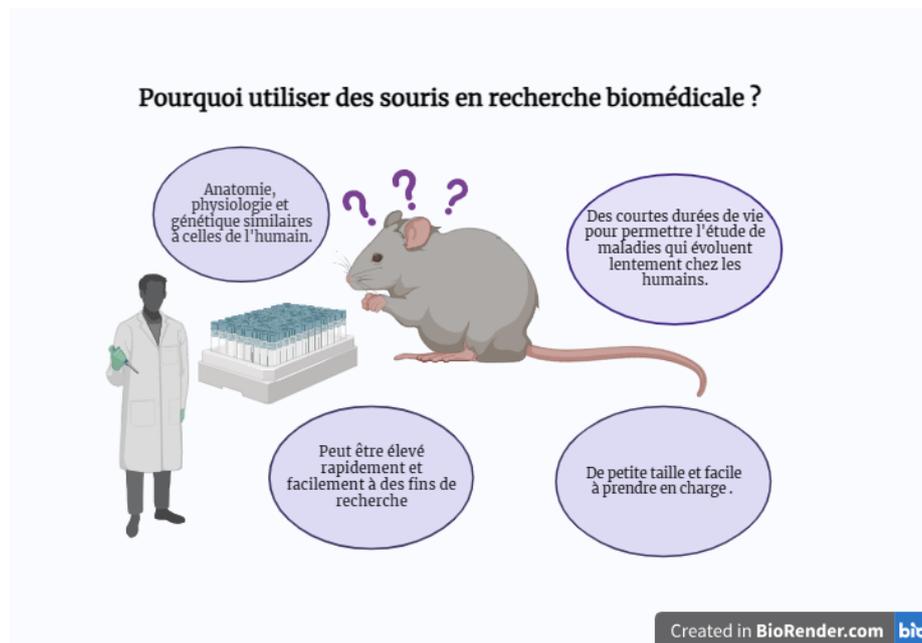


Figure 3 : Raisons pour lesquelles les souris sont utilisées en recherche biomédicale. Adapté de (22).

La souris présente de nombreux intérêts : sa taille (10 cm, 30 grammes en moyenne), sa courte durée de vie (de l'ordre de deux ans), son rythme rapide de reproduction (3 à 8 petits par portée et une gestation de 21 jours) et son faible coût par rapport à d'autres organismes-modèles (24). Cela signifie que nous pouvons obtenir assez facilement un nombre suffisant de souris pour différents types d'expériences. De plus, la souris est un organisme dont les gènes peuvent être délibérément modifiés pour obtenir certaines caractéristiques particulières, et de nombreuses méthodes innovantes peuvent être utilisées pour déterminer précisément les fonctionnements moléculaires, cellulaires et comportementaux impliqués. Les chercheurs peuvent donc mener des études tout au long de leur cycle de vie, voire sur plusieurs générations (15).

Cependant, bien que les méthodes expérimentales utilisant les souris comme

organismes modèles restent essentielles pour les progrès de la recherche scientifique, les chercheurs ne peuvent pas utiliser des animaux lorsque la question scientifique posée peut être résolue autrement.

Quelles sont les limites à l'utilisation des organismes modèles ?

Malgré leur utilité, l'utilisation des animaux pour la recherche expérimentale présente quelques limitations. L'une de ces principales préoccupations concerne leur bien-être. Une expérience de recherche n'est pas autorisée si les dommages causés à l'animal dépassent la valeur des connaissances démontrées grâce à l'expérience. Dans le cas où c'est possible, l'utilisation de techniques alternatives est obligatoire afin d'éviter l'expérimentation animale (18).

D'autres problèmes chez certains modèles peuvent être rencontrés, comme la courte durée de vie (2 semaines chez les nématodes). Pour la drosophile et les nématodes, par exemple, l'efficacité d'un médicament ne peut pas être facilement extrapolée à l'Homme étant donné que leurs systèmes respiratoire, cardiovasculaire et nerveux sont très différents. De plus, leur système immunitaire est moins développé que celui des vertébrés (18).

Les chercheurs doivent être vigilants vis-à-vis de l'environnement et des conditions dans lesquelles les animaux de laboratoire sont hébergés pendant la recherche. Ils doivent être familiers avec leur métabolisme, qui correspond à l'ensemble des réactions chimiques qui interviennent chez les organismes vivants. Les animaux gardés en élevage, peuvent avoir des modifications de leur métabolisme à cause de différents facteurs comme la douleur, le stress, le confinement, le manque de soleil ou d'interaction sociale. L'environnement modifie le comportement des animaux, ce qui peut affecter les résultats expérimentaux (18).

Une autre préoccupation importante est de savoir si les modèles de maladies humaines chez les animaux imitent de manière adéquate la progression de la maladie et les réponses au traitement observées chez l'Homme. On constate que les résultats de la recherche sur les animaux ne peuvent pas toujours être reproduits de manière fiable dans la recherche clinique sur les humains. De plus, au sein même d'Homo Sapiens l'efficacité des médicaments peut varier (18).

Remplacement, Réduction et Raffinement les 3Rs de la recherche animale

Ainsi vu, les chercheurs se soucient réellement du bien-être des animaux, mais sur quels principes se basent-ils ? William Russell et Rex Burch ont publié en 1959 un guide visant à minimiser la souffrance infligée aux animaux. Ils ont formulé le concept des "trois R" - Remplacement, Réduction et Raffinement - en soulignant l'importance d'appliquer des techniques éthiques dans la recherche animale (15) (Figure 4). Aujourd'hui dans le monde entier, les 3Rs sont ancrés dans la législation régissant l'utilisation des animaux à des fins scientifiques (25).

Le Remplacement :

Si une autre méthode scientifiquement valable qui n'implique pas l'utilisation d'animaux est possible pour obtenir les mêmes résultats, alors l'expérimentation animale est interdite. Le principe du remplacement des animaux doit être privilégié lorsqu'il est possible (15). De nombreuses alternatives existent telles que :

- *Cultures de cellules/tissus en 2D* : il s'agit de la croissance de cellules/tissus dans des récipients en plastique spéciaux et des conditions contrôlées (15). Malheureusement, ces modèles ne tiennent pas compte de la complexité des interactions des systèmes biologiques, tels que celles du corps humain (26).
- *Culture d'organoïdes* : considérés comme des organes miniatures, dérivés de cellules souches et de cellules cancéreuses, et cultivés in vitro. Malgré leur grand potentiel pour l'étude du développement humain et des maladies, certains inconvénients persistent, comme la difficulté à les créer, à les faire fonctionner avec d'autres organes ou à contenir tous les types cellulaires que comprend un organe (15). Les organes sur puce sont l'une des sous-catégories des organoïdes. Ce sont de minuscules modèles d'organes humains créés en laboratoire et faits à partir d'organoïdes (15). Ils offrent une alternative éthique mais présentent aussi des limitations (27).
- *Biomatériaux* : substances conçues pour prendre une forme qui, seules ou dans le cadre d'un système complexe, peuvent être utilisées dans différentes applications, y compris la recherche et la pratique clinique. La fabrication de divers tissus a été démontrée grâce à la bio-impression 3D (15).
- *Utilisation d'organismes plus simples* : usage d'organismes avec un nombre réduits de cellules, par rapport aux mammifères et vertébrés, qui ont un système de stress ou de perception de douleurs moins sensible. Cela comprend l'utilisation de procaryotes, de protistes, de champignons et d'invertébrés inférieurs (15).
- *Analyses in silico* : modèles informatiques qui étudient les hypothèses pharmacologiques à l'aide de méthodes telles que les bases de données et l'analyse des données. Elles peuvent être utilisées pour prédire les interactions médicamenteuses et moléculaires ainsi que les effets biologiques ou toxiques (28).

La Réduction :

Lorsque le remplacement des animaux n'est pas possible, une réduction doit être envisagée. Ce qui signifie une diminution maximale du nombre d'animaux utilisés dans les protocoles, de manière à obtenir une réponse claire à la question scientifique posée. Pour cela, des méthodes statistiques sont utilisées pour calculer le nombre minimal d'animaux afin d'avoir des résultats statistiquement valables et d'éviter l'éventuelle répétition de l'expérience. Les programmes de partage des organes et des tissus des animaux sont aussi vivement encouragés (15).

Le Raffinement :

En plus de la réduction, on utilise le raffinement, c'est-à-dire qu'on minimise le stress, la douleur et la souffrance des animaux en concevant soigneusement les expériences et en suivant des lignes directrices pour s'assurer du bien-être des animaux et d'offrir les meilleures conditions d'élevage possible. L'idée est de réduire au maximum le stress imposé aux animaux utilisés en recherche en utilisant par exemple des médicaments contre la douleur (15).

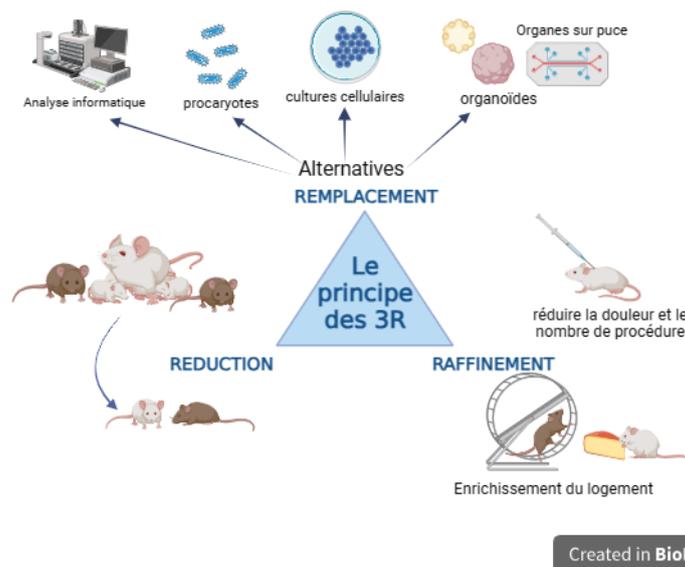


Figure 4 : Le principe fondamental des 3Rs de la recherche. Cette figure a été traduite et inspiré de (15).

Quelles sont les stratégies pour améliorer le bien-être des animaux ?

Afin d'éviter toute souffrance excessive chez la souris, il faut suivre des réglementations strictes. Les animaux ont un niveau de sensibilité proche des humains en termes de douleur, d'angoisse, d'instinct de survie et de mémoire. Il est important de prodiguer les meilleurs soins aux animaux pour leur bien-être. En plus, un mauvais traitement peut aussi influencer les résultats expérimentaux.

Les directives éthiques reposent sur l'hypothèse que l'expérimentation animale est justifiée en raison des avantages importants pour les êtres humains et les animaux. Il faut fournir des soins de haute qualité aux animaux de laboratoire, en leur fournissant un régime alimentaire nutritif, un accès facile à l'eau, un traitement pour les éventuelles maladies et blessures, ainsi que des installations d'hébergement appropriées pour l'animal. La température, l'humidité, la luminosité et la ventilation des locaux d'hébergement sont strictement réglementées et contrôlées. La douleur, la souffrance et l'inconfort de l'animal doivent être minimisés. Lors d'une chirurgie, les animaux doivent bénéficier d'anesthésie ou d'analgésie et être étroitement surveillés pendant la période de récupération. Il est hors de question d'utiliser des animaux en mauvaise santé ou subissant de mauvaises conditions de vie.

Ceci est vérifié par une cellule du bien-être animal composée de membres formés dans les soins spécifiques réservés aux animaux d'expérience. Elle permet de faire le lien entre les chercheurs qui participent au développement de techniques garantissant les 3Rs (Figure 5). De plus, elle défend l'amélioration des conditions d'élevage, des rapports de suivi des soins, ou encore des contrôles internes de l'animalerie (29).

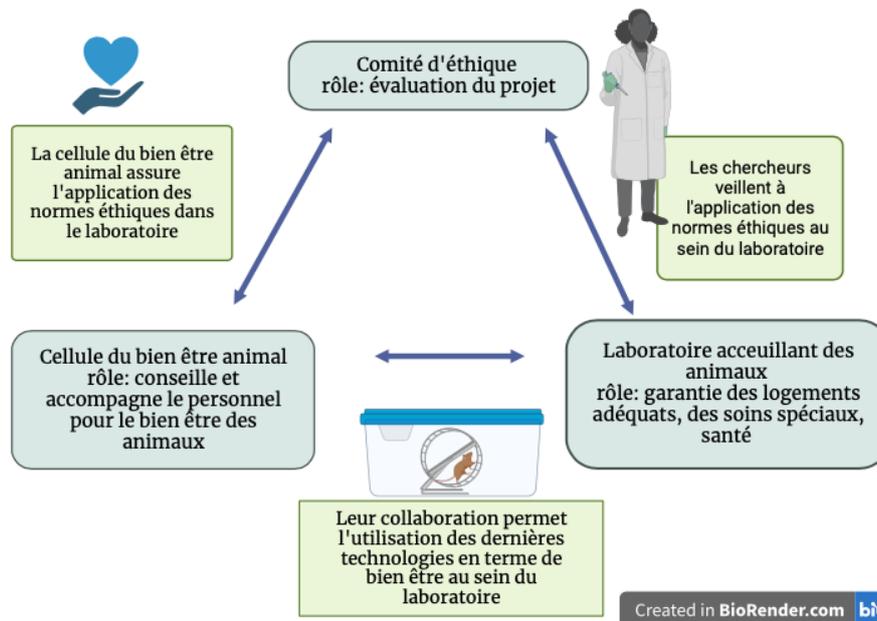


Figure 5 : Récapitulatif des missions et des interactions entre la cellule du bien-être animal, le comité d'éthique et le laboratoire

Dans le but d'améliorer le bien-être des animaux plusieurs stratégies peuvent être mises en place.

- L'enrichissement de leur environnement. Par exemple pour les rongeurs, l'ajout d'éléments comme des tunnels pour qu'ils se sentent en sécurité en se cachant dedans ainsi que des cartons et cotons pour l'élaboration de leurs nids (15).
- Pour éviter leur inconfort, il est demandé de prendre soin d'eux avec attention, en leur fournissant un endroit calme, chaud et peu éclairé, des coussins chauffants pour maintenir leur température corporelle dans certain cas (15). Ces missions sont assurées par du personnel formé : animaliers, techniciens et chercheurs.
- Maintenir une ambiance sereine par diminution du bruit des climatiseurs et des appareils électroniques, en évitant les parfums et les sons bruyants. Il est aussi important de prendre des précautions lors du nettoyage des cages et du transport des animaux pour leur éviter un stress (15).
- Ces améliorations sont mises en place par l'intervention de cellules en faveur du bien-être des animaux, dont la présence est obligatoire au sein de chaque laboratoire.

La recherche sur les animaux est-elle bien réglementée ? Existe-t-il des contrôles de routine pour vérifier que tout se déroule correctement ?

Un encadrement strict est imposé pour les animaleries, un personnel qualifié détenteur d'un diplôme d'État doit suivre une formation continue. Le personnel des animaleries veille à l'examen quotidien de la qualité et quantité de l'eau et de nourriture, de la température, de l'humidité et du renouvellement de l'air.

Il existe des animaleries avec des statuts sanitaires différents, qui garantissent une protection adaptée à la condition de l'animal (issu d'élevage, génétiquement modifié, sans flore intestinale...). Parmi elles, on considère celles qui répondent au statut "exempt d'agents pathogènes spécifiques" (specific pathogen free - SPF) qui permet la surveillance rapprochée

de l'état sanitaire des animaux, qui doivent être protégés de certains pathogènes (30). Ce statut est défini par une agence européenne, Federation of European Laboratory Animal Science Association (FELASA), qui place l'application des 3Rs en priorité.

L'expérimentation animale en Belgique est soumise aux lois et réglementations décidées par la Commission Européenne mais également celles votées au niveau régional. Tous les laboratoires travaillant avec des animaux doivent garantir l'application de la loi, conformément à l'arrêté royal, au code wallon du bien-être animal et de l'arrêté du Gouvernement de la Région Bruxelles-Capitale (31).

Les premières directives européennes quant à la protection des animaux datent de 1986 et ont été revues en 2010 (Directive 2010/63/EU) afin d'assurer la standardisation des méthodes expérimentales dans tous les pays membres. Cette directive demande l'envoi d'une preuve de son application à l'autorité adéquate (Bruxelles Environnement en région bruxelloise) endéans les 5 ans. Elle demande aussi la publication annuelle des statistiques concernant le nombre d'animaux utilisés, manipulés ou encore euthanasiés dans les laboratoires (32). L'uniformisation des conditions de vie des animaux dans les laboratoires est primordiale pour assurer la reproductibilité des résultats. Le but étant de réduire au maximum les biais liés à la manipulation.

Une harmonisation européenne s'impose pour s'assurer de la compréhension des lois, des réglementations et surtout des responsabilités associées. La convention européenne pour la protection des animaux vertébrés, plus les céphalopodes, fonde les principes fondamentaux en matière d'alimentation, d'hébergement et de traitement à respecter qui sont basés sur les connaissances actuelles et les bonnes pratiques de soins (33).

Des comités éthiques ont pour rôle de vérifier le protocole des expérimentations impliquant des animaux. Ainsi les chercheurs doivent justifier chaque étape expérimentale pour respecter scrupuleusement la règle des 3Rs (31). Chaque université possède son propre comité éthique composé de vétérinaires, d'expérimentateurs, de statisticiens, d'éthiciens, de membres de la cellule du bien-être et de méthodologistes (34). Toutes les expériences sur les animaux font l'objet d'un protocole d'éthique validé (34).

Des contrôles aléatoires de l'animalerie sont faits par des vétérinaires et inspecteurs de l'autorité compétente, en provenance du service du bien-être animal de la région. Toute infraction est sanctionnée par la suspension de l'agrément et l'obligation d'arrêter toute expérience avant une remise aux normes (35). Un certificat est aussi nécessaire pour manipuler des animaux de laboratoire et les chercheurs doivent suivre des formations continues.

Quelle conclusion peut-on tirer de tout cela ?

L'expérimentation animale a contribué à d'énormes avancées, ce qui a amélioré la santé humaine et animale et a permis la découverte de traitements vitaux. À l'heure actuelle, il est évident que la recherche animale continue de jouer un rôle important dans la compréhension des maladies et le développement de médicaments. Cependant, il est essentiel de rechercher d'autres alternatives pour la réduire, comme les organoïdes, et les biomatériaux. Entretemps, il est de notre devoir de trouver un équilibre entre la santé et le bien-être animal.

Bibliographie :

1. La Fondation Droit Animal, Ethique et Sciences [Internet]. [cité 13 nov 2023]. Animaux utilisés à des fins scientifiques. Disponible sur: <https://www.fondation-droit-animal.org/informations-juridiques/animaux-utilises-a-des-fins-scientifiques/>
2. Tan SY, Tatsumura Y. Alexander Fleming (1881–1955): Discoverer of penicillin. Singapore Med J. juill 2015;56(7):366 7.
3. Howie J. Penicillin: 1929-40. Br Med J Clin Res Ed. 19 juill 1986;293(6540):158 9.
4. Ligon BL. Penicillin: its discovery and early development. Semin Pediatr Infect Dis. 1 janv 2004;15(1):52 7.
5. Crémieux AC. Brève histoire du plan antibiotique du ministère de la Santé en France. Quest Commun. 30 juin 2016;(29):87 93.
6. Uddin TM, Chakraborty AJ, Khusro A, Zidan BRM, Mitra S, Emran TB, et al. Antibiotic resistance in microbes: History, mechanisms, therapeutic strategies and future prospects. J Infect Public Health. 1 déc 2021;14(12):1750 66.
7. Tsoumani E, Carter JA, Salomonsson S, Stephens JM, Bencina G. Clinical, economic, and humanistic burden of community acquired pneumonia in Europe: a systematic literature review. Expert Rev Vaccines. 31 déc 2023;22(1):876 84.
8. Kato H, Hagihara M, Yokoyama Y, Suematsu H, Asai N, Koizumi Y, et al. Comparison of the in Vivo Activities of Garenoxacin and Levofloxacin in a Murine Model of Pneumonia by Mixed-Infection with Streptococcus pneumoniae and Parvimonas micra. Jpn J Infect Dis. 21 nov 2019;72(6):407-12.
9. Fundamental Research | DoResearch [Internet]. 2021 [cité 4 déc 2023]. Disponible sur: <https://doresearch.stanford.edu/glossary-term/fundamental-research>
10. VIB.BE [Internet]. [cité 4 déc 2023]. Facts Series. Disponible sur: <https://vib.be/en/public-outreach/facts-series>
11. EFPIA MID3 Workgroup, Marshall SF, Burghaus R, Cosson V, Cheung SYA, Chenel M, et al. Good Practices in Model-Informed Drug Discovery and Development: Practice, Application, and Documentation. CPT Pharmacomet Syst Pharmacol. mars 2016;5(3):93-122.
12. Development of medicines [Internet]. [cité 13 nov 2023]. Disponible sur: <https://www.efpia.eu/about-medicines/development-of-medicines/>
13. Clinical Trials [Internet]. [cité 13 nov 2023]. Disponible sur: <https://www.efpia.eu/about-medicines/development-of-medicines/regulations-safety-supply/clinical-trials/>
14. Modèles animaux : une recherche éthique | CNRS [Internet]. 2020 [cité 20 nov 2023]. Disponible sur: <https://www.cnrs.fr/fr/modeles-animaux-une-recherche-ethique>
15. Díaz L, Zambrano-González E, Flores ME, Contreras M, Crispín JC, Alemán G, et al. Ethical Considerations in Animal Research: The Principle of 3R's. Rev Investig Clínica [Internet]. 2021 [cité 3 nov 2023];73(4). Disponible sur: https://clinicalandtranslationalinvestigation.com/frame_esp.php?id=320
16. Chu LW. Alzheimer's disease: early diagnosis and treatment. Hong Kong Med J Xianggang Yi Xue Za Zhi. juin 2012;18(3):228 37.
17. Quels progrès médicaux ont été rendus possibles par l'expérimentation animale ? [Internet]. [cité 13 nov 2023]. Disponible sur: <https://sciencesnaturelles.ch/id/6LZV4>

18. KIANI AK, PHEBY D, HENEHAN G, BROWN R, SIEVING P, SYKORA P, et al. Ethical considerations regarding animal experimentation. *J Prev Med Hyg.* 17 oct 2022;63(2 Suppl 3):E255 66.
19. Gircor L. Gircor. 2020 [cité 13 nov 2023]. 10 découvertes médicales réalisées chez l'animal. Disponible sur: <https://www.gircor.fr/10-decouvertes-medicales-realisees-chez-lanimal/>
20. Pandey UB, Nichols CD. Human Disease Models in *Drosophila melanogaster* and the Role of the Fly in Therapeutic Drug Discovery. *Pharmacol Rev.* juin 2011;63(2):411 36.
21. Litke R, Boulanger É, Fradin C. *Caenorhabditis elegans*, un modèle d'étude du vieillissement. *Médecine/Sciences.* juin 2018;34(6 7):571 9.
22. EARA [Internet]. [cité 13 nov 2023]. Why mice are used in animal research. Disponible sur: <https://www.eara.eu/mice-and-animal-research>
23. 20.Mus musculus (Laboratory Mouse) as a Model Organism | Biology II | JoVE [Internet]. [cité 20 nov 2023]. Disponible sur: <https://www.jove.com/v/5129/mus-musculus-laboratory-mouse-as-a-model-organism?language=French>
24. Les organoïdes rénaux | médecine/sciences [Internet]. [cité 20 nov 2023]. Disponible sur: https://www.medecinesciences.org/en/articles/medsci/full_html/2019/06/msc180247/m-sc180247.html
25. De Angelis I, Ricceri L, Vitale A. The 3R principle: 60 years taken well. Preface. *Ann Ist Super Sanita.* 2019;55(4):398 9.
26. Vertrees RA, Jordan JM, Solley T, Goodwin TJ. Tissue Culture Models. *Basic Concepts Mol Pathol.* 25 mars 2009;2:159 82.
27. Danku AE, Dulf EH, Braicu C, Jurj A, Berindan-Neagoe I. Organ-On-A-Chip: A Survey of Technical Results and Problems. *Front Bioeng Biotechnol.* 10 févr 2022;10:840674.
28. Sacan A, Ekins S, Kortagere S. Applications and limitations of in silico models in drug discovery. *Methods Mol Biol Clifton NJ.* 2012;910:87 124.
29. service public federal sante publique securite de la chaine alimentaire et environnement. etaamb.openjustice.be. Moniteur Belge; 2013 [cité 13 nov 2023]. Arrêté Royal du 29/05/2013 arrete royal relatif a la protection des animaux d'experience. Disponible sur: https://etaamb.openjustice.be/fr/arrete-royal-du-29-mai-2013_n2013024221.html
30. Le statut sanitaire du modèle « rongeur » en recherche [Internet]. [cité 13 nov 2023]. Disponible sur: <https://www.ram.cnrs.fr/index.php/acutalites-biocampus/actualites-biocampus/321-le-statut-sanitaire-du-modele-rongeur-en-recherche>
31. KENSIER B. ULB. Benoît KENSIER; [cité 13 nov 2023]. Expérimentation et bien-être animal. Disponible sur: <https://www.ulb.be/fr/ethique-et-integrite/experimentation-animale>
32. Comité européen de coopération juridique [Internet]. [cité 13 nov 2023]. Protection des animaux utilisés à des fins expérimentales ou à d'autres fins scientifiques - Comité européen de coopération juridique - www.coe.int. Disponible sur: <https://www.coe.int/fr/web/cdcj/laboratory>
33. Cliniques universitaires Saint-Luc [Internet]. [cité 13 nov 2023]. Comité d'éthique - Composition. Disponible sur: <https://www.saintluc.be/fr/comite-d-ethique-composition>

34. Stein M, Elefteriou F, Busse B, Fiedler IA, Kwon RY, Farrell E, et al. Why Animal Experiments Are Still Indispensable in Bone Research: A Statement by the European Calcified Tissue Society. *J Bone Miner Res Off J Am Soc Bone Miner Res*. août 2023;38(8):1045-61.
35. Animals in science [Internet]. 2023 [cité 13 nov 2023]. Disponible sur: https://environment.ec.europa.eu/topics/chemicals/animals-science_en