

Numéro d'agrément du laboratoire	
Numéro de projet de la commission d'éthique	2020-58
Titre scientifique du projet	
Titre non-technique du projet	Etude écotoxicologique d'une neurotoxine utilisée dans les insecticides (perméthrine) sur le killifish turquoise ( <i>Nothobranchius furzeri</i> ). Impact sur son développement et son comportement.
Date d'autorisation du projet par la commission d'éthique	1/09/20
Durée du projet (date de début et de fin)	1/09/20 au 31/08/22
Le projet fera l'objet d'une analyse rétrospective (oui/non) et dans quel délai	Oui à la fin du projet
Mots Clés (maximum 10 mots / 100 caractères)	<i>N. furzeri</i> – perméthrine- Neurotoxicité – Vieillesse – Analyse moléculaire- Epigénétique - Comportement – Physiologie
Objectif du projet	<p>Recherche fondamentale : oui</p> <p>Recherches translationnelle ou appliquée : non</p> <p>Test réglementaire et production de routine : non</p> <p>Protection de l'environnement naturel dans l'intérêt de la santé ou du bien-être de l'homme ou de l'animal : oui</p> <p>Conservation des espèces : non</p> <p>Enseignement supérieur ou formation : non</p> <p>Enquête médico-légale : non</p> <p>Maintien de colonies d'animaux génétiquement modifiés, non utilisés dans d'autres expériences : non</p> <p>Maintien de colonies d'animaux génétiquement modifiés, non utilisés dans d'autres expériences : non</p>
Décrivez les objectifs du projet (par exemple, les inconnues scientifiques ou les nécessités scientifiques ou cliniques concernées) (1000 caractères maximum)	L'objectif principal de ce projet est de déterminer la toxicité d'une neurotoxine, la perméthrine, insecticide couramment utilisée dans l'agriculture et les usages domestiques, chez le <i>N. furzeri</i> et d'étudier les conséquences potentielles (à l'échelle moléculaire, comportementale et morphologique) sur le développement larvaire et chez les adultes. Pour atteindre cet objectif, ce projet bénéficiera des avantages de <i>N. furzeri</i> en tant qu'un organisme modèle dont l'espérance de vie naturelle, variant de 3 à 6 mois, est la plus courte connue à l'heure actuelle parmi les vertébrés.
Quels sont les avantages potentiels susceptibles de découler de ce projet (quelles avancées de la science pourraient-elles être attendues ou comment les humains, les animaux ou les plantes pourraient-ils bénéficier du projet)? (1000 caractères maximum)	<p>Dans ce projet nous allons en premier lieu caractériser les comportements d'agressivité et de cognition naturels du poisson ainsi que l'aspect moléculaire, au cours de son existence : 5, 9, 13, 17, 21 semaines après son éclosion. (Expérience 1, du 27/07 au 16/11)</p> <p>Ensuite, nous optimiserons l'utilisation des tests de toxicité sur les larves de <i>N. furzeri</i> nouvellement écloses. D'autre part, l'exposition du <i>N. furzeri</i> à la perméthrine au stade larvaire permettra d'étudier les effets différés de cette toxine au stade larvaire, jeune et vieil adulte. Ceci nous donnera une vision globale de son impact sur <i>N. furzeri</i> et plus particulièrement, sur ses traits comportementaux et moléculaires. Cette approche scientifique nous permet de mieux comprendre les liens entre la mécanistique moléculaire de toxicité liés à une exposition à cette neurotoxine et le phénotype de vieillissement d'un individu exposé pendant le développement. (Expérience 2 : 2021)</p>

Quelles sont les espèces animales qui seront utilisées ?	<i>Nothobranchius furzeri</i>
Quel est le nombre maximal d'animaux ?	294
Dans le contexte de ce qui est fait aux animaux, quels sont <u>les effets négatifs attendus</u> sur les animaux, <u>le niveau de gravité</u> probable ou attendu et <u>le sort</u> des animaux?	<p>Expérience 1 : aucun effet, niveau de gravité léger dû à la manipulation d'un aquarium à l'autre.</p> <p>Expérience 2 : gravité modérée  Changement de comportement et de l'expression des gènes face au stress chimique induit par la perméthrine</p>
Application des 3Rs	
1. Remplacement (1000 caractères maximum)	
Indiquez pourquoi des animaux doivent être utilisés et pourquoi des alternatives n'utilisant pas d'animaux ne peuvent être utilisées	Cette étude est spécifique à l'espèce et adaptée au killifish turquoise ( <i>Nothobranchius furzeri</i> ), impliquant l'analyse d'une réponse complète de l'organisme (phénotype), elle ne peut donc pas être remplacée par des alternatives non animales ni même par des espèces alternatives. La spécificité de ce poisson étant de vieillir de manière précoce, il est le meilleur modèle actuel de vertébré afin d'étudier les interactions entre stress environnementaux et maladies liées au vieillissement.
2. Réduction (1000 caractères maximum) Expliquez comment l'utilisation d'un nombre minimum d'animaux est garantie	Le logiciel G Power a été utilisé afin de calculer a priori le nombre de larves nécessaires. Pour effectuer ce calcul, nous nous sommes référés à une publication ayant suivi un protocole expérimental comparable (Carion et al., 2018). Cette publication avait pour but d'étudier les effets de la BMAA sur le comportement des larves du rivulus des mangroves, <i>Kryptolebias marmoratus</i> , une espèce faisant également partie du groupe des killifish. Le calcul (utilisant l'ANOVA) nous donne comme résultat un N total de 60 + 178 pour une puissance de 80%, soit 28 et 22 larves par condition (respectivement, dans l'expérience 1 et 2). Ce nombre correspond également à ce qui est logistiquement faisable compte tenu de nos installations.
3. Raffinement (1000 caractères maximum) Expliquez le choix des espèces animales et pourquoi le(s) modèle(s) animal(aux) utilisé(s) sont les plus raffinés, eu égard aux objectifs scientifiques	La première raison de l'utilisation de <i>N. furzeri</i> en laboratoire vient de sa courte espérance de vie de seulement trois mois pour certaines lignées, la plus courte découverte chez les vertébrés. Il est devenu alors un modèle de choix dans l'étude du vieillissement chez les vertébrés. Ces poissons produisent des œufs dormants résistants à la sécheresse qui restent viables pendant plusieurs années lorsqu'ils sont stockés dans des conditions standards (Polačik et al., 2016). Dans les études écotoxicologiques, cela implique que les lots œufs produits à des moments différents peuvent tous être induits à éclore le même jour, ce qui entraîne une synchronisation temporelle pour tous les individus étudiés. La publication du génome de <i>N. furzeri</i> ainsi que d'outils de manipulation génétique renforce l'intérêt de l'utilisation de <i>N. furzeri</i> en laboratoire (Reichwald et al., 2015 ; Valenzano et al., et al., 2015).

<p>Expliquez les mesures qui seront prises pour minimiser les effets négatifs sur le bien-être des animaux (douleur, souffrance, inconfort ou dommages permanents).</p>	<p>Les poissons sont euthanasiés par overdose d'anesthésiant MS222 (150µg/L). Le MS222 est un produit couramment utilisé en expérimentation animale chez les poissons. Parmi les anesthésiants couramment testés, ce produit est celui qui limite au maximum le stress de l'anesthésie. Immédiatement après, les organes seront plongés dans l'azote liquide pour une congélation instantanée assurant la parfaite conservation de l'ARN et l'ADN. Ils seront ensuite conservés à -80 ° C avant d'être analysés au niveau moléculaire.</p>
---	--