

Numéro d'agrément du laboratoire	
Numéro de projet de la commission d'éthique	2020-69
Titre scientifique du projet	
Titre non-technique du projet	Effets des microplastiques seuls ou en combinaison avec du méthylmercure sur le système immunitaire, le système nerveux et le comportement des zebrafish.
Date d'autorisation du projet par la commission d'éthique	17/12/20
Durée du projet (date de début et de fin)	1/01/21 au 31/12/21
Le projet fera l'objet d'une analyse rétrospective (oui/non) et dans quel délai	oui
Mots Clés (maximum 10 mots / 100 caractères)	zebrafish, plastique, MeHg, biomarqueurs, comportement
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 : non</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)	<p>Cette recherche présente plusieurs objectifs inédits. Premièrement, voir quels sont les effets des microplastiques (MP) vierges sur les systèmes nerveux et immunitaire du zebrafish au cours de son développement. Nous en profiterons également pour voir s'il y a des incidences sur le comportement de la larve et du juvénile exposés, et à retardement, sur l'adulte. Ici, nous testons une dose environnementale élevée (100 µg/l) et une dose 10x plus concentrée (1000 µg/l).</p> <p>Le deuxième objectif est de voir quel est le pouvoir des microplastiques en tant que véhicule de pollution chimique. Les mêmes biomarqueurs sont étudiés mais cette fois, nous retrouvons la présence d'une concentration environnementale élevée (20 µg/l) en méthylmercure (MeHg) en même temps de nos deux doses de MP. Notre hypothèse ici est que les MP vont accélérer et amplifier la contamination au MeHg en étant ingérés.</p> <p>Notre dernier objectif est une approche un peu différente des 2 contaminants. Nous cherchons à voir ce qu'il se passe lorsque nous avons un milieu contaminé en MP qui eux-même ont été contaminés au MeHg avant de rentrer dans le milieu. Nous cherchons à voir si le MeHg est bio-disponible pour le zebrafish s'il est uniquement véhiculé par le MeHg.</p>

Quels sont les avantages potentiels susceptibles de découler de ce projet (quelles avancées de la la science pourraient-elles être attendues ou comment les humains, les animaux ou les plantes pourraient-ils bénéficier du projet)? (1000 caractères maximum)	Une nouvelle avancée sur les effets potentiellement toxiques des microplastiques, un polluant émergent très largement relargué mondialement. Les effets sur le système immunitaire, le système nerveux central et le comportement sont encore peu connus surtout lors d'exposition chronique. De plus, les propriétés des microplastiques en tant que véhicules de pollution chimique ont à peine été explorées avec d'autres polluant mais jamais avec le MeHg.
Quelles sont les espèces animales qui seront utilisées ?	Zebrafish (<i>Danio rerio</i>)
Quel est le nombre maximal d'animaux ?	4680
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?	Les poissons seront exposés à des microplastiques ce qui pourrait induire des lésions au niveau de l'intestin entraînant potentiellement des inflammations et donc un inconfort modéré de ces poissons. Toutefois, une partie des individus seront également exposés au MeHg, un métal lourd connu pour sa toxicité et ses effets sur le système nerveux central. A cette concentration (20 µg/l), le MeHg peut créer des œdèmes sévères chez la larve, une scoliose, un comportement de prédation affaibli, des malformations de la queue, un rythme cardiaque diminué voire de la mortalité. Impact en terme d'inconfort ? Sévère ? Avant chaque prélèvement (corps entier), les poissons sont anesthésiés par overdose de MS222.
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	Dans cette étude, nous chercherons à évaluer les effets de MP de PS avec ou sans MeHg sur la mise en place des systèmes nerveux et immunitaire du poisson. L'étude se déroulera tout au long de son développement de l'œuf à l'adulte en passant par la larve, et en étudiant le comportement du poisson au cours de son évolution. Il ne serait pas possible de créer un modèle aussi complet <i>in vitro</i> ou <i>in silico</i> .
2. Réduction (1000 caractères maximum) Expliquez comment l'utilisation d'un nombre minimum d'animaux est garantie	Lors de cette étude, les effets des MP combinés ou non avec du MeHg seront évalués sur différents processus physiologiques : le système immunitaire du zebrafish et son système nerveux. De plus, l'influence d'une telle exposition sur le comportement de la larve et de l'adulte sera évaluée. Ainsi, le nombre de réplicat nécessaire pour chaque analyse sera calculé en fonction des publications déjà disponibles sur cette espèce sur ces mêmes types d'expérience, ainsi que les données recueillies au sein de notre laboratoire sur les larves de zebrafish. Le nombre de réplicats a été déterminé à 3 par la commande <code>power.anova.test</code> sur R.
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	Le modèle biologique choisi est le poisson zèbre car cette espèce présente plusieurs avantages : il possède des conditions d'hébergement efficaces, faciles et maîtrisées dans le laboratoire. Il a une taille réduite et un élevage facile en boîte de pétri ou en flacon de culture stérile ventilé pour l'exposition des larves aux microplastiques. Son génome est entièrement séquencé et partiellement annoté. De nombreuses études ont déjà été menées dans le domaine engendrant ainsi une littérature conséquente.

<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>Avant chaque prélèvement (corps entier), les poissons seront euthanasiés par sur overdose de MS222.</p> <p>De plus pour les adultes, une grille de score a été mise en place pour éviter la souffrance animale. Si un poisson dépasse le seuil de la grille, il sera euthanasié.</p> <p>A partir de 30% de mortalité, on arrête l'expérience.</p>
---	--