

ACADÉMIE VÉTÉRINAIRE DE FRANCE

COMMISSION « RELATIONS HOMME – ANIMAUX »

Rapport

Recherche scientifique et expérimentation animale.

État de la question

Mai 2012

Élaboration et validation du rapport

"Recherche scientifique et expérimentation animale.

État de la question"

Ce rapport s'inscrit dans le cadre d'une réflexion générale conduite par la **Commission « Relations Homme-Animaux »** de l'Académie Vétérinaire de France, en concertation informelle avec la **Commission « Éthique »** de l'Académie de l'Agriculture de France.

Il a été conçu et coordonné par Claude Milhaud.

Ont participé à sa rédaction : Henri Brugère, Bertrand Deputte, Agnès Fabre, Jean Kahn, Yves Le Floc'h Soye, Henri Maurin-Blanchet, Claude Milhaud, membres de la Commission « Relations Homme-Animaux » de l'Académie Vétérinaire de France.

Les rédacteurs du rapport remercient les membres de la Section « Recherche et Enseignement » de l'Académie Vétérinaire de France : Hervé Bazin, Claude Carnaud, Michel Fougereau, Jean-Louis Guénet, Dominique Kerbœuf, Jean-Paul Laplace, Charles-Henri Malbert, Pierre Mormède, Gérard Orth, André Parodi, Charles Pilet, Serge Rosolen, Jean-Paul Rousseau, Michel Thibier, pour les avis éclairés et pertinents qu'ils ont formulés lors de la revue du projet de rapport.

La conclusion du rapport est présentée sous la forme d'un avis qui a été soumis pour examen à l'Assemblée Générale de l'Académie vétérinaire de France et adopté par elle le 21 juin 2012.

Sommaire

ACADÉMIE VÉTÉRINAIRE DE FRANCE
COMMISSION « RELATIONS HOMME – ANIMAUX »
Rapport
Recherche scientifique et expérimentation animale.
État de la question

RÉSUMÉ	5
INTRODUCTION	7
CHAPITRE I : UN DÉBAT DE SOCIÉTÉ	
1) La recherche biomédicale : une nécessité sociétale	9
2) L'expérimentation animale : fondement de l'approche scientifique de la santé	9
2.1) Bilan historique	9
2.2) Importance quantitative de la recherche utilisant les animaux	12
2.3) Encadrement réglementaire	13
2.4) Unanimité des organismes de recherche	15
2.5) Extension au problème de l'utilisation d'animaux vivants à des fins pédagogiques	15
3) L'opposition à l'expérimentation animale	15
3.1) Une question de société	15
3.2) Nature et méthodes de l'opposition à l'expérimentation animale	16
3.2.1) Sincérité globale des opinions	16
3.2.2) Opposition philosophique : courants actuels	17
3.2.3) Oppositions associatives	17
3.2.4) Opposition radicale	18
3.2.5) Opposition méthodologique	18
4) Position des expérimentateurs	19
4.1) Évolution : de la discrétion à la communication	19
4.2) Organisation actuelle de la réflexion en matière d'expérimentation animale	19
4.2.1) Au sein des organismes de recherche	19
4.2.2) Les associations professionnelles	19
4.2.3) La formation : initiatives spontanées, formations réglementaires	20
4.2.4) Auto-régulation : l'éthique	20
4.2.5) Organismes officiels	21
5) La controverse	22
5.1) Existe-t-il une base rationnelle au jugement sur l'expérimentation animale	22
5.2) La réponse de J. HABERMAS	22
5.3) Rejet expliqué partiellement par les grands défis non relevés et par certains échecs	23
5.4) Incohérence sociétale	23
5.5) Attitudes des parlementaires	23

CHAPITRE II : MODÈLES ANIMAUX ET MÉTHODES SUBSTITUTIVES

1) Des modèles animaux	25
1.1) Complexité des organismes	25
1.2) Limites éthiques et scientifiques à l'utilisation de l'homme en biologie et médecine expérimentales	26
1.3) Double parenté avec les animaux	26
1.4) Conscience des limites des modèles animaux	27
2) Utilisation des modèles animaux	28
2.1) Modèles animaux en recherche fondamentale	28
2.1.1) Un exemple de démarche expérimentale : la physiologie des glandes endocrines	29
2.1.2) Témoignages de chercheurs sur la démarche expérimentale	29
2.2) Modèles animaux en recherche appliquée	31
2.2.1) Médecine	31
2.2.2) Chirurgie	32
2.2.3) Toxicologie et Sécurité des produits de santé, Pharmacologie	32
2.3) Limites aux conditions d'utilisation	32
2.3.1) Limitation du nombre d'animaux utilisés	32
2.3.2) Limitation des contraintes imposées aux animaux	33
2.4) Aspects économiques et pratiques	34
3) Des méthodes substitutives	34
3.1) Préalable : méthodes substitutives et méthodes alternatives	34
3.2) Réglementation européenne : l'ECVAM (« European Centre for the Validation of Alternative Methods »)	35
3.3) Toxicologie et sécurité des produits de santé	36
3.4) Pharmacologie	37
3.5) Contrôle d'efficacité et d'innocuité des produits immunologiques	38
3.6) Les limites des méthodes <i>in vitro</i>	38
3.6.1) Rappels	38
3.6.2) Reproductibilité	38
3.6.3) Durée de la démarche de validation.	39
3.7) Les limites des méthodes <i>in silico</i>	40
4) Des approches synthétiques ou combinatoires	40
5) Conclusions.	42

CHAPITRE III : PRATIQUE DE L'EXPERIMENTATION ANIMALE. FONDEMENTS D'UNE ATTITUDE ACADÉMIQUE

1) Premier fondement : le recours à l'expérimentation animale est indispensable	43
2) Deuxième fondement : la sensibilité des animaux et leur proximité biologique impliquent qu'ils soient respectés	44
2.1) Maîtrise de la douleur	44
2.2) Au delà de l'éradication de la douleur, limiter le recours aux animaux vivants et assurer leur bien-être constituent les bases d'une attitude éthique	45
2.2.1) les trois « R »	45
2.2.2) « Enrichment »	45
2.2.3) Rapport bénéfique pour les humains / préjudice pour les animaux	46

2.2.4) Les comités d'éthique	46
La Charte nationale portant sur l'éthique de l'expérimentation animale	46
2.2.5) La mort de l'animal de laboratoire	48
2.2.6) Réhabilitation ou « Rehoming» de l'animal de laboratoire	48
3) Troisième fondement : rationalité, objectivité et diversité président à la démarche expérimentale	48
4) Quatrième fondement : vers un apaisement du débat sur l'expérimentation animale par un dialogue et un respect mutuel	50
4.1) La communication, un des devoirs de l'expérimentateur	50
4.2) Les devoirs de la Société	51
4.3) Pour une écoute réciproque	52

CONCLUSION

Avis de l'Académie Vétérinaire de France	53
---	----

BIBLIOGRAPHIE

Références citées dans le rapport	55
Ouvrages ou références consultés ou à consulter.	57

ANNEXES

Annexe 1 : Liste des lauréats du prix Nobel de Physiologie ou de Médecine, complétée modèles des animaux utilisés (1901-2011).	59
Annexe 2 : Extraits du sixième rapport sur les statistiques concernant le nombre d'animaux utilisés à des fins expérimentales et à d'autres fins scientifiques dans les états membres de l'Union Européenne SEC(2010) 1107.	62
Annexe 3 : Utilisation des animaux de laboratoire. Statistiques 2008 du Royaume Uni	65
Annexe 4 : Les 10 mesures proposées par le Pr H. Curien, ministre de la Recherche et de la Technologie (1992)	67
Annexe 5 : Activisme « pro-animal », juillet 2011	68
Annexe 6 : Position des organes européens de sécurité face aux violences de certains activistes « antivivisectionnistes ».	70
Annexe 7 : Positions de minorités scientifiques : Lettre de l'association « Safer Medicine » publiée dans « The Lancet »	72
Annexe 8 : L'Association Française des Sciences et Techniques de l'Animal de Laboratoire et de ses activités	74

Annexe 9 : Formation des techniciens en expérimentation animale	77
Annexe 10 : Mouvements d'opinion concernant les vaccinations	80
Annexe 11 : Avis de l'Académie Vétérinaire de France sur la proposition de loi relative " <i>au recours à la vivisection et à l'utilisation des animaux domestiques en laboratoires (10 mai 2007)</i> "	82
Annexe 12 : Modèle spontané de myodystrophie : le « Golden Retriever» (2011) ..	84
Annexe 13 : Stratégie visant à réduire le nombre d'études de toxicologie	85
Annexe 14 : Coût des animaux de laboratoire.	86
Annexe 15 : Définitions anglaises et nord américaines des méthodes alternatives	88
Annexe 16 : Notes sur le test EvaTOX.	90
Annexe 17 : Règlement REACH	91
Annexe 18 : Méthodes substitutives et alternatives (3R) validées ou en cours de validation par la réglementation européenne (2011)	92
Annexe 19 : Méthodes substitutives et alternatives (3R) en cours d'études subventionnées dans le cadre des organisations européennes (2011)	95
Annexe 20 : Méthodes <i>in vivo</i> et <i>in vitro</i> (substitutives et alternatives) proposées en tant que standards internationaux par l'OCDE (2011)	97
Annexe 21 : Organismes européens et américains concernés par le développement et la diffusion de techniques substitutives et alternatives (3 R) en toxicologie (1993-2011)	100
Annexe 22 : Prise en compte de la douleur en expérimentation	101
Annexe 23 : Approche de la notion de points-limites	104
Annexe 24 : Concept de « réhabilitation »	106
GLOSSAIRE	107

RESUME

Rédigé sur auto-saisine de la commission chargée des relations homme-animaux, de l'Académie Vétérinaire de France, ce rapport comprend trois chapitres respectivement intitulés : un débat de société, modèles animaux et méthodes substitutives, pratique de l'expérimentation animale : fondements d'une attitude académique. Ces trois chapitres sont suivis d'un avis adopté par l'Académie Vétérinaire de France le 21 juin 2012 et de 24 documents annexes.

Débat de société. Correspondant aux exigences de la population en matière de santé et de longévité, la recherche dans les sciences biologiques et médicales s'appuie largement sur l'expérimentation animale. Dans une société au sein de la quelle la place de l'animal a considérablement évolué l'utilisation d'animaux à des fins expérimentales est remise en question, bien qu'historiquement justifiée.

Schématiquement il est possible de distinguer trois groupes de contemporains à l'origine de cette opposition. Les uns adhèrent à des idées philosophiques mettant l'homme sur un strict pied d'égalité avec l'ensemble des autres espèces animales. D'autres manifestent une compassion spontanée vis-à-vis des animaux. Sentiment qu'ils expriment à propos de toute situation dans laquelle ces derniers sont maltraités ou risquent de l'être. Enfin quelques rares scientifiques contestent la validité des modèles animaux comme source fiable de connaissances en pathologie humaine et vétérinaire. L'expression de ces convictions par des actions violentes, exceptionnelles dans notre pays, pose un problème de sécurité et de liberté d'exercice qui oblige les chercheurs à sortir de leur réserve et à s'exprimer sur la légitimité et sur les conditions de la pratique de l'expérimentation animale.

La création d'associations professionnelles nationales et internationales, l'organisation de formations spécialisées, d'abord spontanées puis normalisées par les pouvoirs publics, la création par une démarche volontariste de comités d'éthiques régionaux ou institutionnels, enfin l'adoption des dispositions réglementaires européennes et nationales ont largement contribué à la réflexion des expérimentateurs et à la progression du respect de l'animal et de sa bienveillance dans l'exercice de leurs disciplines.

La controverse qui oppose les expérimentateurs à une partie de la société a pour origine des convictions et des attitudes qui ne peuvent être modifiées par une argumentation rationnelle. Ces convictions et attitudes sont confortées par un sentiment global de défiance vis-à-vis de la Science qui a tendance à s'étendre dans la période contemporaine, bien que, paradoxalement, les exigences de progrès et de sécurité n'aient jamais été aussi élevées.

Modèles animaux et méthodes substitutives. Une étude approfondie des modèles animaux, de leur justification, de leurs limites, et de leur utilisation dans les principales disciplines de la médecine et de la biologie, est mise en parallèle avec une étude, tout aussi approfondie et conduite selon le même schéma, de la justification, des limites et de l'utilisation des méthodes substitutives et des méthodes alternatives dans les principales disciplines de la médecine et de la biologie. Cette étude comparative conduit aux conclusions suivantes:

La complexité des organismes ne peut pas être modélisée par la simple addition de systèmes biologiques élémentaires. Le caractère hautement intégratif de la Vie amène les disciplines de la biologie en général et les disciplines biomédicales en particulier, à utiliser lorsque nécessaire, de manière raisonnée et limitée, des modèles de niveau de complexité similaire à l'homme : les animaux de laboratoire.

La recherche fondamentale, qu'elle soit physiologique, immunologique ou génétique, est actuellement plus orientée vers les approches cellulaires et moléculaires. Cependant, elle ne peut que recourir aux animaux de laboratoire lorsqu'elle veut intégrer au niveau de l'organisme entier les résultats obtenus *in vitro*. Il en est de même pour les recherches concernant la connaissance des mécanismes physio-pathologiques qui constituent les fondements des thérapeutiques médicales et chirurgicales.

En toxicologie et sécurité des produits de santé ou en pharmacologie les approches *in vitro* ou *in silico*, avec leurs propres limites et au-delà de la satisfaction d'un plus grand respect de la vie et du bien-être des animaux qui les accompagnent, permettent la réalisation d'importantes économies de temps et de moyens financiers. Le développement spontané de leur emploi et leur introduction dans la réglementation se heurtent actuellement à l'insuffisance des propositions issues de la recherche et à la lourdeur des opérations de validation.

Le bilan très limité des méthodes *in vitro et in silico* ainsi que des raisons tant économiques qu'éthiques amènent la communauté scientifique internationale et les pouvoirs publics à faire un important effort humain et financier, afin de développer, grâce aux progrès de la bioinformatique, des méthodes dites combinatoires. Ces méthodes ont pour objectifs d'associer l'analyse et la synthèse des bases données antérieures aux résultats les plus récents obtenus par le faisceau expérimental rassemblant méthodes, *in vivo, in vitro et in silico*. Chacune de ces approches demeure indispensable car chacune d'elles contribue par son éclairage spécifique à la connaissance synthétique des phénomènes du vivant à l'échelle globale de l'organisme, humain ou animal.

Pratique de l'expérimentation animale : fondements d'une attitude académique. Il est proposé de fonder une attitude académique sur :

- la réaffirmation d'un préalable incontournable : le recours à l'expérimentation animale est indispensable aux progrès de la connaissance et de la médecine, dans l'état actuel de la Science;
- l'expression à l'égard des animaux de laboratoire d'un respect fondé sur leur caractère d'êtres sensibles et sur leur origine phylogénétique commune avec l'homme; ce respect est concrétisé par l'adoption du principe des 3 R, par la prise en compte rapport préjudice aux animaux/ bénéfice pour l'homme, par la généralisation des comités d'éthique et par le développement de diverses mesures de bien-être : enrichissement du milieu, standardisation des méthodes d'euthanasie, réhabilitation post –expérimentale,
- la reconnaissance qu'en biologie en général et en biomédecine en particulier, la démarche expérimentale utilise, sans *a priori* et de manière objective, l'ensemble des possibilités méthodologiques qu'elle a créées;
- la définition et la proposition d'un dialogue sociétal fondé sur la connaissance et le respect mutuel.

INTRODUCTION

Dès leurs premiers travaux expérimentaux incluant des animaux, deux physiologistes, inspirés de la démarche rationaliste des physiciens et des chimistes, François MAGENDIE (1783-1855) et Claude BERNARD (1813-1878) ont dû, l'un et l'autre, faire face à l'hostilité de quelques uns de leurs contemporains. Par la suite et pendant près d'un siècle, l'opposition à l'utilisation d'animaux dans un but d'expérimentation va demeurer l'apanage de minorités, finalement peu influentes en France.

Dans les soixante dernières années, l'éloignement de la réalité objective des animaux de ferme, le développement spectaculaire des animaux de compagnie, ou encore l'influence de la représentation anthropomorphique des animaux dans les fictions cinématographiques ou télévisuelles, ont bouleversé l'image traditionnelle de l'animal dans la société occidentale. Cette évolution sociétale profonde a trouvé des correspondances et un soutien dans les approches philosophiques liées à la morale utilitariste développée au XIX^e siècle par Jeremy BENTHAM (1748-1832) et reprise au XX^e par Peter SINGER (1946 -), ce courant philosophique convergeant avec le courant dit « continuiste ou antispéciste » pour interroger les relations entre l'homme et les animaux, pour alimenter le débat sur la continuité ou la discontinuité existant entre l'homme et les animaux. De son statut juridique d'objet, l'animal a évolué implicitement ou explicitement vers celui de sujet de droit [1] [2] [3]. Et si les droits de l'animal demeurent du domaine de la controverse, les devoirs de l'homme envers ce dernier sont aujourd'hui communément admis [4] [5].

Au cours des trente dernières années la contestation de l'utilisation d'animaux à des fins de recherche a trouvé, dans cette interrogation, dans la remise en cause des relations homme-animaux, un support philosophique et une justification à ses prises de positions. Et ce, avec d'autant plus d'efficacité que d'une façon générale les grands échecs du XX^e siècle (les guerres mondiales et locales, la torture, les famines, la dilapidation des ressources naturelles, la relative lenteur, liée aux difficultés rencontrées, dans la mise au point de prophylaxies ou de thérapeutiques pour lutter contre certaines maladies majeures telles que le cancer ou le sida) contribuent à la mise en cause du progrès et au-delà de la Science et des scientifiques.

Dans ce contexte il ne faut pas s'étonner de voir se développer l'activité des associations dites « antivivisectionnistes », dont l'objectif final vise l'abolition de l'expérimentation animale par des moyens le plus souvent légaux mais aussi parfois par des actions violentes. Cette prise de position, fondée sur l'émotion et non sur la raison, heurte la communauté scientifique dans sa très grande majorité.

Hors des querelles philosophiques, mais sans les ignorer, dans le cadre des réflexions sociétales de notre académie ce rapport a pour objet d'établir le plus objectivement possible les raisons et les conditions de la pratique de l'expérimentation animale ainsi que celles qui président au développement des méthodes qui pourraient s'y substituer.

CHAPITRE I

UN DÉBAT DE SOCIÉTÉ

1) La recherche biomédicale : une nécessité sociétale

Bien que l'on puisse imaginer son origine comme concomitante de celle des premières sociétés organisées, la recherche biomédicale dans sa forme moderne a pris naissance au XVIII^e siècle. Elle s'est ensuite développée de manière quasi exponentielle pour atteindre le volume de 43.770 publications en 2006. Cette croissance correspond à un triple déterminisme : exigence partagée pour assurer à chacun la meilleure santé possible et une longévité maximale ; moyens matériels suffisants pour que la recherche puisse développer, aussi bien pour l'homme que pour les animaux, des moyens thérapeutiques et prophylactiques de plus en plus efficaces ; élévation générale du niveau d'éducation des populations permettant de consacrer les moyens humains nécessaires à la recherche biomédicale.

Parallèlement, la demande sociale en matière de santé s'est amplifiée, la notion de droit à la santé s'est imposée. À ce droit fondamental s'est adjoint le principe de précaution et sa conséquence : la nécessité d'évaluer de manière plus approfondie les risques de toute innovation technologique sur la santé. En répondant à ces deux besoins fondamentaux de notre société la recherche biomédicale doit aussi prendre en compte l'importance économique de tout progrès réalisé dans le domaine de la prévention.

L'expérience de plus de deux siècles et le vécu quotidien montrent, si nécessaire, que chaque progrès aussi bien dans les disciplines fondamentales que dans le développement de nouveaux moyens thérapeutiques ou prophylactiques a été fondé sur le recours à l'expérimentation animale à défaut de pouvoir expérimenter sur l'homme (chapitre 1 § 2.2).

2) L'expérimentation animale : fondement de l'approche scientifique de la santé.

2.1) Bilan historique

Le bilan de la pratique de l'expérimentation animale depuis les travaux initiaux de la fin du XVIII^e siècle, est indiscutable tant dans son ampleur que dans sa fécondité. Cette approche des mécanismes de la Vie constitue le socle incontournable de la biologie et de la médecine actuelle. Pour concrétiser cette affirmation on peut se rapporter au palmarès du prix Nobel de physiologie ou médecine, de sa création en 1901 à nos jours. Palmarès qui devient particulièrement éloquent si on prend soin de le compléter par l'espèce ou les espèces que chacun des lauréats a utilisées dans ses travaux (Annexe 1).

Afin de dégager quelques fils directeurs quatre tableaux ont été extraits du palmarès global. Ils illustrent, respectivement, la part prise par les modèles animaux (ne sont pas rapportés ici les

travaux fondamentaux sur les virus et les bactéries pourtant à l'origine, eux aussi, de découvertes majeures en génétique et distinguées par plusieurs prix Nobel) dans quelques uns des grands progrès de la médecine depuis le début du XX^e siècle ainsi que dans le développement de trois disciplines fondamentales : la physiologie du système nerveux, la génétique et l'immunologie.

Tableau 1. Quelques uns des grands progrès de la médecine depuis le début du XX^e siècle

Années	Lauréats	Thèmes	Modèles animaux
1905	R. Koch	Agent de la Tuberculose et du choléra	Vache, Mouton
1907	A.Laveran	Agent du paludisme	Oiseau
1923	F.G. Banting J.J.R. Macleod	Découverte de l'insuline et mécanisme du diabète	Chien, Lapin, Poisson
1945	A.Fleming et E.B. Chain	Découverte de la pénicilline	Souris
1951	M. Theiler	Vaccin contre la fièvre jaune	Singe, Souris
1954	J.F. Enders, T.H. Wellers, F.C. Robbins	Vaccin contre la poliomyélite (culture in vitro du virus)	Singe, Souris
1966	F.P. Rous et C.B. Huggins	Virus induisant des tumeurs et traitement hormonal du cancer de la prostate	Rat, Lapin, Poule
1976	C. Gajdusek, B. S. Blumberg	Origine du Kuru	Chimpanzé
1990	J.E. Murray et E.D. Thomas	Techniques et transplantation d'organes (jumeaux homozygotes)	Chien
1997	S. Prusiner	Découverte des Prions	Souris, Hamster
2005	B.Marshall, R. Warren	Rôle de <i>H. pylori</i> dans les ulcères gastriques	Gerbille, Porc
2008	H. zur Hausen, F. Barré-Sinoussi, L. Montagnier	Découverte des virus HPV et HIV	Souris, Primate
2010	R. Edwards	Développement de la fécondation <i>in vitro</i>	Souris, Lapine

Tableau 2. Quelques grandes étapes du développement de la neurophysiologie.

Années	Lauréats	Thèmes	Modèles animaux
1906	C.Golgi et S. Ramon y Cajal	Structure du système nerveux	Chien, Cheval
1932	C.S. Sherrington et E.D. Adrian	Fonction des neurones	Chien, Cheval
1936	H.H. Dale et O. Loewi	Transmission chimique de l'influx nerveux	Chat, Grenouille, Oiseau, Reptile
1944	J.Erlanger et H.S. Gasser	Propriétés du neurone	Chat
1963	A.L. Hodgkin, A.F. Huxley et C. Eccles	Mécanismes ioniques et cellules nerveuses	Chat, Grenouille, Crabe, Calmar
1970	J. Axelrod B. Katz et U. von Euler	Physiologie des neurotransmetteurs	Chat, Rat
2.000	A. Carlsson, P.Greengard et E.R. Kandel	Transduction du signal nerveux	Souris, Limaces

Tableau 3. Quelques grandes étapes du développement de la génétique.

Années	Lauréats	Thèmes	Modèles animaux
1933	T.H. Morgan	Rôle des chromosomes dans l'hérédité	Drosophile
1935	H. Spemann	Effet « Organizer » dans le développement embryonnaire	Grenouille, Triton
1968	R. Holley, G. Khorana et M. Nirenberg	Interprétation du code génétique et synthèse des protéines	Rat
1995	E. B. Lewis, C. Nusslein – Volhard et E.F. Wieschaus	Contrôle génétique du développement embryonnaire	Drosophile
2002	S. Brenner, J. Sulston et R. Horvitz	Régulation génétique du développement des organes et de la mort cellulaire	Nématode
2009	E. Blackburn, C. Greider et Jack Szostak	Protection des chromosomes par les télomères et la télomérase	Souris, Grenouille

Tableau 4. Quelques grandes étapes du développement de l'immunologie.

Années	Lauréats	Thèmes	Modèles animaux
1908	P. Ehrlich, E. Metchnikov	Réactions immunitaires et fonction des phagocytes	Oiseau, Invertébrés marins, Cobaye
1913	C. Richet	Mécanisme de l'Anaphylaxie	Chien, Lapin
1919	J. Bordet	Mécanisme de l'Immunité (le Complément)	Cobaye, Cheval, Lapin
1960	F. M. Burnet, P. B. Medawar	Compréhension de la tolérance immunitaire acquise	Lapin
1972	G. Edelman, R. Porter	Structure chimique des anticorps	Cobaye, Lapin
1980	J.D. Snell et B. Benacerraf	Description et fonction du complexe majeur d'histocompatibilité	Souris, Cobaye
1984	N. Jerne, G. Köhler et C. Milstein	Formation des anticorps monoclonaux.	Souris, Rat
1987	Tonegawa Susumu	Structure génique des anticorps	Souris,
1996	P. Doherty et R. Zinkernagel (Suisse)	Reconnaissance par le système immunitaire des cellules infectées par un virus	Souris
2011	J. Hoffmann, B. Beutler et R. Steinman	Système immunitaire inné	Souris

L'examen attentif de ces quatre tableaux permet de proposer quelques éléments de réflexion.

En premier lieu, quelle que soit la nature, appliquée ou fondamentale, des travaux récompensés le recours à l'expérimentation animale constitue une constante. Les espèces utilisées se révèlent diverses et concernent les invertébrés, les vertébrés, les poïkilothermes ou les homéothermes, ainsi 22 espèces sont citées à propos des travaux rapportés dans les quatre tableaux, Cette diversité, nécessaire à la compréhension des mécanismes fondamentaux du vivant, témoigne parallèlement du soin apporté au choix du modèle expérimental.

Lorsque ces animaux ont été utilisés comme modèle globaux, en général des mammifères, ils ont permis, par exemple, la mise au point de vaccins essentiels (fièvre jaune, poliomyélite) sans qu'il ait été nécessaire de disposer de toutes les connaissances fondamentales actuellement impliquées dans la maîtrise des mécanismes immunologiques sous-tendant la vaccination (tableaux 1 et 4).

Aussi bien dans les disciplines fondamentales que dans les disciplines appliquées, l'animal est le plus souvent l'objet d'une prise de risque et de la mise en jeu de sa vie : contamination virale ou microbienne, essais des thérapeutiques hormonales, transplantations d'organes ou chocs immunitaires (tableau 1 et 4).

Au-delà du fait de s'abstenir de faire courir le moindre risque à des sujets humains, le recours aux modèles animaux vise à éviter des contraintes sévères que la bioéthique et le bon sens condamnent ou condamneraient si elles étaient appliquées à des êtres humains : sections et stimulations en neurophysiologie (tableau 2), manipulation du génome et des embryons en génétique (tableau 3).

Enfin, on peut aussi observer, dans ces tableaux, que bien souvent le choix du modèle d'étude est fondé sur des critères de praticité. C'est le cas de la drosophile dont la très petite taille, les facilités d'élevage et le cycle de vie très court permettent le renouvellement rapide de générations d'importance statistiquement satisfaisante telles que les souhaitent les généticiens. Dans le même ordre d'idée le neurone géant du calmar constitue, par sa taille, un des modèles choisis par les physiologistes de la conduction nerveuse.

Par ailleurs, l'accumulation des connaissances fondamentales à propos de la biologie d'espèces telles que la drosophile ou la souris amène à de quasi monopoles d'usage dans certaines disciplines ou branches de discipline, par exemple : génétique pour la drosophile ou modèles transgéniques (en pathologie expérimentale) et immunologie pour la souris.

Le bilan du passé ne garantit jamais l'avenir. Néanmoins, il contribue, en grande partie à la validation des acquis antérieurs, en l'occurrence, celle des méthodes et concepts expérimentaux fondés sur les modèles animaux et mis en jeux par les disciplines biomédicales, pendant plus d'un siècle.

2.2) Importance quantitative de la recherche utilisant les animaux

L'utilisation d'animaux de laboratoire concerne directement ou indirectement 60.000 biologistes en France. Dans l'ensemble des pays développés ce nombre est de l'ordre du million.

L'émergence, en cours, de grandes nations telles que l'Inde, la Chine et le Brésil laisse supposer que dans 20 ans le nombre de chercheurs susceptibles d'utiliser des animaux dans le cadre de recherches fondamentales ou appliquées, sera de l'ordre de deux millions [6].

L'expérimentation animale concerne en Europe et en 2008, pour 38,1% la biologie fondamentale, pour 22,8 % la recherche et le développement des médicaments pour l'homme et les animaux, pour 14,9 % la production et le contrôle des moyens prophylactiques et thérapeutiques pour l'homme et les animaux, pour 8,7 % la toxicologie et la sécurité, pour 1,7 % l'enseignement et la formation, pour 1,6 % le diagnostic, enfin 12% sont qualifiés d'« autres » (Annexe 2).

Le nombre d'animaux utilisés à ces différentes fins, en Europe, en 2008, est de 12 millions, dont environ 3 millions au Royaume Uni, 2,330 millions en France, 760.000 en Suisse. Ces chiffres peuvent être comparés à ceux des États-Unis, situés entre 22 et 25 millions d'animaux (dans lesquels le nombre des rongeurs est seulement évalué). Globalement rongeurs et lagomorphes représentent 80 % des animaux utilisés, les animaux à sang froid 15 %, les oiseaux 5%. La proportion des carnivores (0,3%) et celle des primates (0,1%), poursuivent la réduction progressive dont elles sont l'objet depuis une dizaine d'année. Les détails concernant les espèces utilisées, la nature des modèles ou la finalité des expérimentations, dans le cas d'un pays comparable à la France en ce domaine, le Royaume Uni, sont rapportés en Annexe 3.

Les chiffres globaux cités peuvent légitimement alarmer. Ils doivent être relativisés en considérant, au moins, les espèces concernées, la répartition des niveaux des contraintes imposées et la finalité de leur utilisation. De même, ces chiffres doivent être replacés dans leur contexte historique. Ainsi les efforts de développement des méthodes alternatives au cours de la dernière décennie, en particulier en toxicologie et sécurité du médicament ont été contrebalancés par l'augmentation parallèle de l'utilisation de modèles génétiquement modifiés ou transgéniques (Annexe 3). Simultanément, les perspectives offertes par les stratégies combinatoires (Chapitre II § 4) laissent espérer, à moyen terme, une réduction sensible du nombre d'animaux utilisés.

L'indispensable effort d'explication qui devrait accompagner ces chiffres est rarement constaté. Il est à l'origine de la méfiance voire de l'hostilité d'une partie du public expliquant, au-delà des considérations éthiques, scientifiques ou économiques, l'importance politique de ce problème dans certains pays tels que le Royaume Uni ou l'Allemagne. La protection animale et, en conséquence, l'expérimentation animale constituent d'ores et déjà, dans ces pays, des thèmes de controverses électorales. En France, à un moindre degré, la part prise par l'expérimentation animale dans les débats et les conclusions des rencontres « Animal et Société » ou l'important rapport des députés Michel LEJEUNE et Jean-Louis TOURAINE [7] en témoignent.

2.3) Encadrement réglementaire.

La pratique de l'expérimentation animale est étroitement encadrée par des textes nationaux, européens et internationaux. Les ministères chargés de l'Agriculture et de la Recherche, en premier lieu, les ministères chargés de la Santé, de l'Industrie, et de l'Environnement de façon plus secondaire, sont concernés, à titre divers, par l'élaboration et par l'application de la réglementation.

Globalement celle-ci doit intégrer la recommandation faite par la Déclaration d'Helsinki (2000) [8] :

« 11. La recherche médicale sur des êtres humains doit se conformer aux principes scientifiques généralement reconnus. Elle doit se fonder sur une connaissance approfondie de la littérature scientifique et des autres sources pertinentes d'information ainsi que sur une expérimentation appropriée réalisée en laboratoire et, le cas échéant, sur l'animal. »

La pratique de l'expérimentation doit, en outre, respecter la nature d'être sensible reconnue, en France, par le code rural (art. L.214.1 à L.214.25), aux animaux domestiques et aux animaux sauvages apprivoisés ou tenus en captivité. Cette réglementation fait suite et répond à la loi de protection de la nature de 1976 (ex article 276 du Code Rural). En Europe le protocole sur la protection et le bien-être des animaux, annexé au Traité d'Amsterdam signé en 1997, repris dans le « mini-traité » de Lisbonne, pose le principe d' *« une plus grande protection et un meilleur respect du bien-être des animaux en tant qu'êtres sensibles »*.

Depuis l'adoption de ces traités la protection animale fait partie à part entière de la politique de l'Union Européenne. Les États membres doivent tenir compte de la protection des animaux en tant qu'êtres sensibles lors de la formulation et de l'adoption de règles communes sauf pour les questions relevant de pratiques culturelles, régionales et/ou religieuses à propos desquelles la responsabilité est laissée à l'État membre (principe de subsidiarité).

Cet encadrement réglementaire fait l'objet, comme toute législation, de discussions par les représentants élus des populations : les parlements nationaux ou le parlement européen.

En France, l'expérimentation animale est pratiquée sous le régime d'une réglementation nationale spécifique qui n'est que la transcription des textes européens ainsi que de certains textes plus généraux du Code Pénal (condamnation des actes de cruauté envers les animaux : article 521-1, condamnation de l'expérimentation animale pratiquée par une personne non autorisée : article 521-2, et condamnation des mauvais traitements : articles R 653-1, R 653-2, R 655-1), du Code de la Santé Publique (connaissances nécessaires en préalable à l'expérimentation clinique : article L 1121-2) et du Code Rural (cf. supra).

Activité totalement libre jusqu'en 1968, l'expérimentation animale voit son cadre réglementaire évoluer progressivement et parallèlement à l'évolution de la sensibilité de notre société et de la controverse sous-jacente [3][9].

Première étape : 1968. Décret 68 /139 en application de la loi du 19 novembre 1963. Une autorisation individuelle est nécessaire pour expérimenter.

Deuxième étape : 1986. Établissement par la Communauté européenne d'une directive spécifique la directive 86 /609 /CEE du 24 novembre 1986, transposée par le décret 87-848 du 19 octobre 1987 et les arrêtés du 19 avril 1988. Ces textes européens posent le principe de l'autorisation de l'expérimentateur, de l'agrément de l'établissement dans lequel il pratique et de l'origine des animaux utilisés. Ils précisent un certain nombre de lignes directrices pratiques, relatives aux conditions d'hébergement des animaux. Ces dispositions ont été complétées en 1992 par dix mesures proposées par le Pr. H. CURIEN alors ministre de la Recherche et de la Technologie. Ces mesures constituaient le cadre d'une politique volontaire et responsable impulsée par le ministère de la Recherche et de la Technologie, au nom de la communauté scientifique (Annexe 4).

Troisième étape : 2011. Les nouvelles dispositions européennes, directive 2010/63/UE du 22 septembre 2010, ajoutent aux trois autorisations antérieures l'agrément de chaque protocole expérimental, limitent l'emploi des primates et introduisent des invertébrés, les céphalopodes, dans la réglementation. Elles rendent obligatoires la création des comités de réflexion sur le bien-être des animaux (dits « comités d'éthique ») et modifient les anciennes lignes directrices d'hébergement des animaux en prenant en compte les connaissances récentes en éthologie à propos de la notion d'« enrichissement comportemental ».

Par ailleurs, depuis la prise en compte de la notion de « bien-être animal » par l'Organisation Mondiale de la Santé Animale (OIE), en 2001, des groupes de travail, propres à cet organisme, réfléchissent à l'élaboration de textes spécifiques aux animaux de laboratoire [10].

2.4) Unanimité des organismes de recherche.

Dans le monde entier, l'ensemble des organismes de recherche publics ou privés ont recours à des animaux tant pour élargir le champ des connaissances fondamentales que pour développer de nouveaux moyens thérapeutiques ou pour pratiquer des contrôles toxicologiques et ce, quelles que soient les cultures philosophiques dominantes dans leurs nations respectives. Les seules nuances perceptibles ne sont pas d'ordre méthodologique mais dans l'application pratique de règles fondamentales d'éthique qui, par ailleurs, se généralisent et s'uniformisent rapidement.

2.5) Extension au problème de l'utilisation d'animaux vivants à des fins pédagogiques.

De justification moins évidente que dans le cas de la recherche biomédicale, l'utilisation des animaux de laboratoire à des fins pédagogiques est fréquemment mise en cause. Son utilité pédagogique, d'importance et de nature très variables, demande à être considérée au cas par cas. La qualité des maquettes pédagogiques de plus en plus perfectionnées, des simulations informatiques ou des moyens vidéo devrait aboutir à une moindre utilisation d'animaux dans un but pédagogique.

Ainsi, sur les 2.328.380 animaux de laboratoire utilisés en France, en 2008, 55.573 (soit 2,3 %) ont été consacrés à la formation dans les Universités ou les Lycées et Instituts techniques. Cette proportion se situe dans la partie haute de la fourchette européenne (0,1 à 2,9 %) [1]. Elle mériterait une réflexion appropriée qui sort quelque peu du cadre de ce rapport.

3) L'opposition à l'expérimentation animale.

3.1) Une question de société.

Comme cela a été signalé dans l'introduction, l'opposition à l'expérimentation animale s'est développée, dans les trente dernières années, dans tous les pays occidentaux. Bien qu'à l'origine de la médecine moderne et de son développement, la méthode expérimentale et ses mérites sont

ignorés de certaines catégories de la population qui de plus en plus marquent leur défiance pour les démarches médicales à fondement scientifique. Sur cette base s'est développée une opposition active, structurée, dotée de moyens substantiels, produisant une abondante littérature militante et utilisant au mieux les opportunités qu'offre le réseau Internet [9]. Elle se montre parfois capable de violences et sensibilise de façon grandissante une partie du public.

Or les réactions de cette dernière peuvent se révéler paradoxales. En effet, les réglementations détaillées concernant la sécurité des médicaments, des produits cosmétiques ou, maintenant, de toute substance chimique (règlement REACH : Registration, Evaluation, Authorisation and restriction of CHemical substances) sont l'aboutissement de deux préoccupations d'apparence contradictoire. Le consommateur européen exige un maximum de sécurité en ce qui concerne les produits ou les médicaments qu'il utilise, ce qui implique la réalisation de tests incluant dans leur grande majorité des animaux de laboratoire. Et parallèlement, une partie de l'opinion publique manifeste sa volonté de voir réduire ou même supprimer les contraintes imposées à ces animaux.

Nous retrouvons la même contradiction entre le souci de santé avec la demande de traitements toujours plus efficaces, et la négation de l'expérimentation animale comme source majeure de connaissances en biomédecine.

Soumis à ses contradictions le public ne s'exprime guère. Il demeure semble-t-il encore relativement peu concerné, si bien que les résultats des rares sondages effectués se révèlent eux-mêmes contradictoires. Ce phénomène se retrouve dans d'autres controverses concernant les relations homme-animaux : telles que celles concernant les méthodes de l'élevage « productiviste » ou les abattages rituels.

Ce type de contradiction est illustré, en Grande Bretagne, par les différences observées entre les résultats de deux sondages, celui commandé en décembre 2009 par le Gouvernement (société Ipsos-Mori) met en évidence 71% d'opinions favorables à l'utilisation des animaux de laboratoire par la recherche biomédicale alors que le sondage, commandé en août 2010 par l'association Animal Aid (société GfK-NOP) constate que 82% des personnes sondées sont opposées à l'expérimentation animale et 16 % y sont favorables [11].

Comment expliquer ces contradictions? Les questions posées n'étant pas strictement identiques, il est possible que leur formulation influence les personnes interrogées, en particulier lorsque les tenants et les aboutissants d'une problématique, comme celle faisant l'objet du présent rapport, sont mal connus du public.

3.2) Nature et méthodes de l'opposition à l'expérimentation animale.

3.2.1) Sincérité globale des opinions

Sauf cas exceptionnels, l'engagement des membres des associations dites « antivivisectionnistes » se révèle gratuit et indiscutablement sincère; il est le plus souvent fondé sur une philosophie personnelle qui reconsidère les relations homme-animaux et qui ne se limite pas à l'opposition à l'expérimentation animale. Généralement, ces personnes s'engagent aussi dans les autres thèmes de la défense des animaux : droit des animaux, opposition aux techniques des

élevages « productivistes », à l'usage des fourrures animales, à la consommation de viandes, à la pratique des abattages rituels, etc. Bien entendu, il existe, comme dans toute activité sociale organisée, quelques professionnels de la gestion de ces associations qui vivent de cette activité et dont la sincérité pourrait être mise en doute.

3.2.2) Opposition philosophique : courants actuels

Les réflexions relatives à la position de l'homme vis-à-vis des animaux ont considérablement évolué au cours des dernières décennies. Durant des millénaires, un mur d'une grande étanchéité a séparé l'homme des animaux, le conduisant à utiliser ces derniers pour satisfaire ses besoins car, comme toute la Création, ils étaient supposés être à son service. Le recul du sentiment religieux et la diffusion (partielle) des idées de la biologie moderne, le darwinisme et la génétique (dans une interprétation simpliste), ont contribué à souligner l'appartenance de l'homme au règne animal, entraînant un sentiment de plus grande proximité, voire d'une égalité, et la conviction que le fait d'utiliser les animaux menace sa sensibilité et nuit à la biodiversité.

De façon plus précise, la convergence de deux courants philosophiques, le courant utilitariste et le courant dit « continuiste ou antispéciste », remet en cause le cadre des relations homme-animaux tel qu'il se présentait encore au milieu du XX^e siècle. Elle pose notamment le problème général de l'utilisation des animaux par l'homme. Le courant utilitariste à partir de la reconnaissance de la sensibilité, puis de la valeur morale de chacun des animaux au même titre que de chacun des humains place les relations homme-animaux dans une perspective égalitaire. Celle-ci est renforcée par les adeptes du courant « continuiste ou antispéciste » dont les réflexions inspirées des découvertes de la biologie, en général, et de l'éthologie, en particulier, visent à démontrer la continuité qui existerait entre l'homme et les animaux, minorant ou faisant abstraction de la singularité de la culture et de la spiritualité de l'homme. Cette double perspective égalitaire remet en cause toutes les relations homme-animaux telles que nous les connaissons encore aujourd'hui aussi bien au niveau individuel que collectif.

Elle constitue le fondement philosophique de deux principes largement popularisés dans notre société et tout aussi largement invoqués par les associations dites « antivivisectionnistes » : les droits de l'animal [3] et le bien-être animal.

3.2.3) Oppositions associatives

Initialement portées par des appréciations émotionnelles souvent légitimes, les associations dites « antivivisectionnistes » quelque peu isolées se sont progressivement incluses dans la sphère plus générale de ce que certains appellent l'activisme « pro-animal ». Elles y ont trouvé une argumentation rationalisée et des méthodes d'action. Au-delà de la compassion naturelle vis-à-vis des animaux concernés, les adversaires de l'expérimentation animale, immergés dans une société qui partiellement doute de la Science et de ses progrès, sont persuadés du caractère agressif de toutes les expérimentations, de leur inutilité, ainsi que de la mauvaise foi, de la cruauté ou de l'esprit de lucre des expérimentateurs ou des organismes qui les emploient.

Leur credo réside dans l'invocation quasi magique des méthodes d'expérimentation dites *in vitro* comme substituts supérieurs à l'utilisation des animaux. Les associations de protection animale

agissent pour la plupart avec passion mais le plus souvent dans le cadre légal, souvent en concertation internationale. Leurs axes d'efforts actuels, en dehors de la contestation permanente des méthodes et des résultats obtenus par l'expérimentation animale, ont pour objectifs l'abandon par les compagnies aériennes du transport des animaux de laboratoire (ce qui vise à limiter l'utilisation des chiens, des primates et des animaux transgéniques) et le développement d'une campagne pour convaincre le public de s'abstenir de faire des dons aux associations charitables soutenant la recherche médicale (Annexe 5) [11].

Quelques unes des associations françaises évoluant, au sein de l'activisme pro-animal, non seulement respectent la légalité mais se présentent ouvertes à un certain dialogue avec les chercheurs. Elles participent régulièrement aux activités des instances de réflexion sur l'expérimentation animale, Commission Nationale de l'Expérimentation Animale (CNEA) et Comité National de Réflexion Éthique en Expérimentation Animale (CNREEA) (Chapitre I §4.2.5).

3.2.4) Opposition radicale

Malheureusement il doit être constaté qu'une dérive s'est introduite dans l'activisme « pro-animal » laissant émerger de petites minorités radicales, quasi sectaires ou même des individus isolés, fermés à toute concertation et cherchant ainsi à imposer leur point de vue à l'ensemble des citoyens. La gravité de leurs actes correspond à la définition du terrorisme. Des actes de nature illégale et violents, sont exécutés au nom d'une idéologie : il s'agit le plus souvent d'incendies criminels d'institutions ou d'entreprises, d'atteintes aux biens des expérimentateurs et de menaces adressées à leurs familles. Cette violence, préoccupante, difficile à comprendre et à cerner, inquiète les pouvoirs publics en Europe et aux États Unis. Elle a fait l'objet, au début de l'été 2011, d'une importante réunion de travail des organismes européens en charge de la sécurité des citoyens : Europol et Eurojust (Annexes 5 et 6).

3.2.5) Opposition méthodologique

Au sein de la communauté biomédicale, en France et à l'étranger, quelques personnalités, minoritaires, chercheurs ou médecins, ou groupes de personnalités (Safer Medicine, Physicians Committee for Responsible Medicine, Pro-anima en France) condamnent, au nom de leur expérience clinique et scientifique, l'expérimentation animale, malgré son incontestable bilan. Ils avancent son inefficacité dans certains domaines tels que la cancérologie, son coût éthique et financier et surtout les risques que cette approche de la thérapeutique et de la toxicologie ferait courir aux populations. (Chapitre I § 5.3) De leur point de vue, l'association de mesures et observations réalisées chez l'homme aux résultats de recherches conduites à l'aide des techniques *in vitro et in silico* devraient apporter à moindre frais une sûreté inégalée en thérapeutique, toxicologie et sécurité des médicaments. (Annexe 7).

4) Position des expérimentateurs.

4.1) Évolution : de la discrétion à la communication.

On pourrait penser que les malades, les chercheurs, les médecins ou les vétérinaires sont ceux qui ont la plus grande légitimité pour s'inviter au débat concernant l'expérimentation animale. Ces quatre communautés sont, en effet, particulièrement impliquées dans l'attente de progrès déterminants mais on les entend peu. Historiquement, jusqu'aux années 1980, les équipes de recherche, très rarement critiquées et rassurées par l'application rigoureuse en leur sein de la réglementation, ont jugé inutile de répondre à des manifestations limitées dans leur importance et leur impact médiatique. Le « vivons cachés » a prévalu pendant quelques décennies laissant planer une volonté d'opacité défavorable à l'image de la recherche biomédicale.

L'irruption de la télévision puis de l'Internet, le rajeunissement des membres des associations dites « antivivisectionnistes », l'action de personnalités médiatiques et le début des violences ont amené la communauté biomédicale et les responsables des grands organismes de recherche à s'organiser pour pouvoir exprimer leur point de vue au public. Ainsi, en 1991, était créé le Groupe Interprofessionnel de Communication sur la Recherche (GIRCOR) qui fédère actuellement l'ensemble de la recherche biomédicale aussi bien publique que privée. Cette association, sans but lucratif, vise à promouvoir la communication, à exprimer le point de vue des chercheurs, en complément à la communication propre aux grands organismes publics se consacrant à la recherche. Tout en reconnaissant le bien-fondé et la nécessité de l'expérimentation animale les associations de malades ou les associations professionnelles médicales ne s'engagent, en ce domaine, que très peu et avec beaucoup de réticence.

4.2) Organisation actuelle de la réflexion en matière d'expérimentation animale

4.2.1) Au sein des organismes de recherche

Tous les grands organismes de recherche en France et à l'étranger disposent, au niveau des directions, sous formes diverses (bureau spécialisé, responsable désigné, comité) d'une structure assurant au sein de l'organisme la responsabilité de l'expérimentation animale.

4.2.2) Les associations professionnelles

A partir des années 1960 la qualité des animaux de laboratoire et celle de leur environnement sont apparues comme des facteurs essentiels dans la réussite des procédures expérimentales, en particulier dans le domaine de la reproductibilité de leurs résultats. La production et la maintenance de ces animaux se sont alors professionnalisées. A la recherche d'informations techniques les chercheurs se sont rassemblés dans des associations qui vont non seulement diffuser les bonnes pratiques mais encore être à l'origine de la réflexion éthique en ce domaine.

En France, il s'agit de l'Association Française pour les Sciences et Techniques de l'Animal de Laboratoire créée en 1972. Les associations de ce type se sont regroupées à l'échelon européen (Federation for Laboratory Animal Science Association, FELASA, 1978) et mondial (International

Council of Laboratory Animal Science, ICLAS, 1956, International Association of Colleges on Laboratory Animal Medicine, IACLAM). Les déclarations de leurs motivations font apparaître clairement leur souci d'un traitement éthique des animaux de laboratoire (Annexe 8).

4.2.3) La formation : initiatives spontanées, formations réglementaires

Dans notre pays, sollicité par la communauté biomédicale, le Professeur Michel BERTRAND crée à l'École Nationale Vétérinaire de Lyon, dès 1967, le Centre d'Information sur les Animaux de Laboratoire. Son enseignement dispensé sous forme de sessions de 15 jours porte pendant plus de vingt ans aussi bien sur la déontologie à visée éthique que sur les aspects techniques. En 1972, l'Université de Créteil développe un enseignement de plusieurs niveaux, destinés aux techniciens et aux chercheurs. Année scolaire 1973- 1974 : première formation scolaire officielle en France, au Lycée Agricole de Vendôme il s'agit d'un diplôme national de type CAPA (Certificat d'Aptitude Professionnel Agricole) Option : Animalier de laboratoire. Cet enseignement, créé à la demande des professionnels, va se développer :

- 1977, adjonction d'un Diplôme National de type B.E.P.A (Brevet d'Enseignement Professionnel Agricole) Option : Animalerie, spécialité laboratoire
- 1989, Diplôme National de type B.T.A (Brevet de Technicien Agricole) Option : Technicien Animalier de Laboratoire - 2011 : Diplôme National de type Bac Professionnel : Technicien Expérimentation Animale (T.E.A) en 3 ans. (Annexe 9)

La réglementation mise en application en 1987 rend obligatoire le suivi d'une formation homologuée pour pouvoir pratiquer des expérimentations sur les animaux. De ce fait, des formations générales ou spécialisées, réparties en trois niveaux, se sont multipliées sur le territoire national sous le contrôle de la Commission Nationale de l'Expérimentation Animale, CNEA. De création plus récente une formation de haut niveau est proposée aux vétérinaires spécialisés, dans le cadre des « Collèges Vétérinaires Européens ».

4.2.4) Auto-régulation : l'éthique

Les premières réflexions génératrices de mesures tangibles d'amélioration de la condition des animaux de laboratoire émanent du milieu universitaire britannique. Tout d'abord, en 1926, Charles HUME crée l'ULAWS (University of London Animal Welfare Society), association qui étend son influence à l'ensemble du monde universitaire anglais en devenant, en 1938, l'UFAW (Universities Federation for Animal Welfare). Cette association, d'autant plus crédible qu'elle traduisait l'opinion de scientifiques, a été la première à apporter des améliorations sur tous les points concernant l'hébergement et l'utilisation des animaux de laboratoire.

Œuvrant dans le cadre de cette association, William RUSSEL (1925-2006) et Rex BURCH (1926-1996) proposaient en 1959 le principe des « 3 R » (Chapitre 3 § 2.2.1) : l'adoption d'une attitude « alternative » visant à remplacer les animaux (« Replacement »), à en réduire le nombre utilisé (« Reduction ») ou à améliorer les conditions expérimentales (« Refinement ») [12]. Avec le même souci d'améliorer les conditions éthiques de l'expérimentation animale, des chercheurs

canadiens réunis dans la Canadian Association for Laboratory Animal Science en concertation avec le Canadian Council on Animal Care, proposaient, en 1969, le concept de comités d'éthique en expérimentation animale. Simultanément un groupe de chercheurs européens réunis par le Centre Européen de la Tufts University et la Fondation Marcel MERIEUX à l'occasion du centenaire de la mort de Claude BERNARD adoptent « *Les principes d'éthiques en expérimentation animale* » ou Déclaration de Talloires en août 1969.

Le législateur européen attendra 1986 pour adopter une directive officielle en ce domaine (Chapitre I, § 2.3). Conscients de la nature sensible des modèles animaux les chercheurs précédaient la démarche du législateur, avec d'autant plus d'intérêt qu'ils constataient chaque jour l'influence de la bientraitance des animaux sur la qualité de leurs résultats [13].

L'application des « Bonnes pratiques de laboratoire », l'accréditation volontaire, nationale ou internationale, pratiquées par les laboratoires de pharmacologie et de toxicologie, la généralisation des comités d'éthique en dehors de toute réglementation ou encore les politiques éditoriales des revues scientifiques qui, spontanément, ont convenu de ne publier que des travaux soumis à une évaluation éthique ou pour le moins en accord avec les législations nationales, toutes ces initiatives concourent, au delà de la législation, à un usage respectueux, raisonné et optimisé de l'animal de laboratoire.

4.2.5) Organismes officiels

Deux organismes officiels ont été mis en place dans le cadre des réglementations successives:

- tout d'abord, à l'occasion de la transcription de la directive 86/609/CEE a été créé la Commission Nationale de l'Expérimentation Animale (CNEA) chargée pour l'essentiel de veiller à l'application des articles R-214 à 216 du Code Rural concernant l'expérimentation animale et de manière un peu plus précise de promouvoir les méthodes substitutives, les bonnes pratiques dans l'élevage, l'entretien et la manipulation des animaux de laboratoire, ainsi que l'homologation des formations en ce domaine. Cette commission est composée des représentants des différents ministères concernés, des associations professionnelles, des chercheurs du public et du privé ainsi que des associations de protection animale [14].

- puis, afin de formaliser les initiatives éthiques en recherche biomédicale, en particulier les comités d'éthique, un Comité National de Réflexion sur l'Éthique en Expérimentation Animale (CNREEA) a été créé en 2005, en vertu des articles R 214-122 à 129 du Code Rural. Il était initialement chargé de l'élaboration d'une charte d'éthique: « La charte nationale portant sur l'éthique de l'expérimentation animale » adoptée le 22 juin 2009 conjointement par les ministères chargés de l'Agriculture et de la Recherche (Chapitre III § 2.2.2). La mission permanente de ce comité consiste à adresser à la CNEA toute recommandation en matière d'éthique de l'expérimentation animale. De composition pour l'essentiel identique à la CNEA il comprend, en outre, des personnalités qualifiées en philosophie, sociologie et sciences juridiques.

5) La controverse.

5.1) Existe-t-il une base rationnelle au jugement sur l'expérimentation animale?

Il peut être avancé qu'un des problèmes qui se posent à la culture contemporaine est celui de l'équivalence qui tend de plus en plus à s'établir entre toutes les formes de croyance. Celles-ci ne sont pas jugées en fonction de leur contenu, des raisons et des arguments qui parlent en leur faveur ou des chances qu'elles ont d'être vraies. Les critères d'adhésion sont plutôt des notions comme la sincérité et le degré de conviction de leurs adeptes, la satisfaction et le réconfort qu'elles apportent à ceux qui y adhèrent ou même simplement le nombre plus ou moins important de personnes qui y croient. La mise en cause de l'expérimentation animale, *per se*, par ses opposants et leur argumentation relèvent en grande partie de ce phénomène. De ce fait se pose la question d'une rationalisation de la réflexion en ce domaine.

5.2) La réponse de J. HABERMAS

Une thèse centrale de Jürgen HABERMAS est que la discussion, informée et argumentée, d'une question conflictuelle débouche sur une solution consensuelle, universellement acceptable, seulement si la discussion est conduite sans contraintes entre tous les intéressés et si tous ont la volonté d'aboutir à un consensus. Cet auteur est favorable à la liberté et à la tolérance pluraliste, car il postule qu'elles débouchent sur l'unification raisonnable des points de vue [15].

Or, il constate que le débat bioéthique, pluraliste et pluridisciplinaire (songeons à l'euthanasie, au statut de l'embryon, au clonage, etc.) dément cette thèse et atteste une diversité philosophique et morale irréductible [16].

5.3) Rejet expliqué partiellement par les grands défis non relevés et par certains échecs

Dans ce climat déjà défini, caractérisé par une augmentation sensible de la suspicion globale à l'égard de la Science, les arguments des associations dites « antivivisectionnistes » sont d'autant plus efficaces que la méthodologie commune utilisée en recherche biomédicale, fondée sur les modèles animaux, a connu quelques échecs regrettables et donne parfois l'impression de stagner, à propos de certaines affections, en l'absence apparente de progrès. Cependant, les résultats négatifs, bien que non publiés, constituent toujours un progrès même si celui-ci n'est connu que de l'équipe concernée.

Parmi les échecs de la valeur prédictive de l'expérimentation animale il est courant de souligner le fait qu'en utilisant les méthodes actuelles de contrôle, l'aspirine n'aurait probablement jamais été autorisée et qu'*a contrario* le thalidomide et le di-éthylstilbestrol (Distilbène) n'auraient jamais dû être mis sur le marché, avec leurs indications initiales.

Plus en relation avec l'évolution de notre société trois grandes affections : les cancers, la maladie de Parkinson et la maladie d'Alzheimer constituent pour les associations dites « antivivisectionnistes » les exemples d'échec de l'expérimentation animale qu'elles avancent le plus souvent [11]. Témoin du caractère « occidental » de ces impatiences, il est à remarquer que le paludisme, une des causes majeures et non résolue de mortalité dans le monde, n'est jamais cité par

ces associations. Or, cette maladie a atteint, en 2010, 225 millions de personnes, dans 106 pays, provoquant 781.000 décès [17].

En cancérologie il a été argumenté par les chercheurs du Mouse Model of Human Cancers Consortium (2010) et ceux de la National Cancer Breast Coalition (2008) que des molécules testées avec succès chez des souris porteuses de cancers humains greffés, se révélaient inefficaces en clinique, soulignant ainsi la très faible valeur prédictive du modèle murin en ce domaine [18]. Ces chercheurs invoquent, de même, l'inefficacité des modèles de la maladie de Parkinson jusque là développés, comme des rats lésés par manipulation génétique ou des primates traités par administration de neurotoxines [18].

5.4) Incohérence sociétale

La fraction de la société qui rejette le recours à l'expérimentation animale réagit à partir d'un support philosophique plus ou moins affirmé, le plus souvent par compassion pour les animaux et par souci de préserver la vie et la biodiversité. Cette position, souvent extrême, présente une certaine incohérence liée à l'opposition déjà signalée (Chapitre I § 3.1) entre le profond désir partagé, par tous, de bénéficier du droit à la santé et le rejet de l'expérimentation animale, la principale source, jusqu'à nos jours, de progrès dans les disciplines biomédicales.

Au-delà de l'expérimentation animale une nouvelle preuve de l'incohérence sociétale vis-à-vis de la démarche scientifique est fournie par les résultats d'un récent sondage fait en France. Si 75 % des personnes consultées estiment que la Science et la Technologie devraient régler les problèmes de notre civilisation, seuls 50% font confiance aux informations fournies par les chercheurs, en particulier dans les domaines du nucléaire et dans celui des OGM à propos desquels seulement 1/3 des personnes interrogées accordent quelque crédit. La raison principale de cette défiance résiderait, pour le public, dans l'indépendance insuffisante des scientifiques qu'ils soient salariés du public ou du privé [19].

Parallèlement cette même population réclame une résolution rapide des nouveaux problèmes de santé qui se posent, tout en exigeant que l'utilisation des moyens prophylactiques ou thérapeutiques proposés par la recherche pour les résoudre ne soient accompagnés d'aucun risque. De forts mouvements d'opinion fondés sur l'émotion et non sur la connaissance et la réflexion conduisent les pouvoirs publics à des décisions pouvant manquer de rationalité, en particulier dans le domaine des vaccinations. *Arrêté du 4 novembre 2009 relatif à la campagne de vaccination contre le virus de la grippe A (H1N1)* (Annexe 10).

5.5) Attitudes des parlementaires.

Reflet de l'ensemble de l'opinion publique, les parlementaires nationaux et européens, véritables arbitres de la controverse, ont fait jusqu'à présent preuve de sagesse et de modération dans leurs votes d'approbation des dispositifs réglementaires proposés par la puissance publique française ou européenne.

Une réflexion parlementaire, le rapport « *Sur l'expérimentation animale en Europe. Quelles alternatives ? Quelle éthique ? Quelle gouvernance ?* » de MM Michel LEJEUNE et Jean-Louis TOURAINE, témoigne de la volonté de nos élus de prendre en compte et d'approfondir cette question [7].

Cependant soumis à la pression organisée des associations dites « antivivisectionnistes » ou mus par des préoccupations électoralistes, certains parlementaires n'hésitent pas à présenter, exceptionnellement, des propositions de loi qui échappent au réalisme le plus élémentaire (Annexe 11) [20].

CHAPITRE II

MODÈLES ANIMAUX ET MÉTHODES SUBSTITUTIVES

1) Des modèles animaux

1.1) Complexité des organismes

Comme nous l'avons vu au chapitre précédent le relatif déséquilibre entre les nécessaires progrès des disciplines biomédicales et les attentes de la société en matière de maîtrise de la santé constituent une des causes favorisant la controverse sur l'expérimentation animale. Or, chacun sait que les progrès de la médecine sont intimement liés à ceux des sciences fondamentales et de la technologie. Les premières clés de la médecine moderne ont été, la conception du principe de l'équilibre du milieu intérieur par Claude BERNARD, la réfutation de la théorie de la génération spontanée par Louis PASTEUR (1822-1895), ou encore la théorie du stress développée par Hans SELYE (1907-1982). La physiologie et la microbiologie expérimentales ouvraient les portes aux progrès médicaux du XX^e siècle.

Dans les vingt dernières années les progrès de la biologie moléculaire ont été spectaculaires. Parmi ceux-ci la connaissance du génome et d'un grand nombre de ses mutations contribuent largement à l'étude mécanistique des maladies. Les nouvelles disciplines en biochimie et physiologie de la cellule, les « omiques » nous révèlent une organisation d'un haut degré de complexité dont la maîtrise totale des interrelations moléculaires demeure du domaine du futur. Après qu'aient été disséqués les composants moléculaires de la Vie se pose la grande question de savoir comment remettre ces éléments en cohérence afin de comprendre la logique du vivant à tous ses niveaux, de la molécule à l'organisme entier. Face aux nombreuses incertitudes l'étude et la simulation des mécanismes biologiques supposent l'utilisation de modèles d'intégration tels que la cellule cultivée *in vitro*, l'organe isolé *ex vivo* ou l'organisme dans son entier, expérimentations dites *in vivo*.

C'est pourquoi, chercher à comprendre un mécanisme physiologique, par exemple, le fonctionnement de la mémoire, ne peut se faire sur des cellules isolées, même si des études *in vitro*, associées aux études *in vivo* peuvent aider la progression des connaissances en ce domaine. Les fonctions nerveuses supérieures sont, par excellence, une *terra incognita* dont la découverte ne peut se passer de l'objet qu'elle cherche à connaître.

Dans le même ordre d'idée, l'infection d'un organisme de mammifère par un agent infectieux, même très simple, la grippe par exemple, déclenche une cascade de réactions dans l'organisme infecté dont nous n'avons, pour l'instant, qu'une très vague idée mais que l'on sait complexe et qu'on ne peut pas reproduire *in vitro* au seul échelon cellulaire.

Les expériences de génétique qui concernent l'organisme tout entier, ou pire encore des populations, ne peuvent pas, elles aussi, être faites *in vitro* puisqu'on ne sait pas simuler la méiose et la recombinaison génétique.

Comment comprendre par exemple l'étiologie des maladies auto-immunes, du diabète ou tout simplement la plus ou moins grande sensibilité des animaux (et de l'homme) aux maladies infectieuses qui mettent en jeu plusieurs gènes agissant simultanément mais à des niveaux très différents. Comment comprendre le rejet des greffes en expérimentant seulement *in vitro* ?

La douleur constitue un autre problème commun à l'homme et aux animaux supérieurs. Est-il inutile, pour éviter des études impliquant des animaux de laboratoire, de ne pas essayer d'en dévoiler les mécanismes physiologiques dont la connaissance ne progresse qu'avec une lenteur désespérante, en dépit des progrès de l'imagerie médicale?

Enfin, l'évaluation toxicologique de produits chimiques, tels que ceux désignés par le programme européen REACH (Registration, Evaluation, Authorisation and restriction of Chemical substances), ne peut se réaliser complètement à certaines de ses étapes sans prendre aussi, comme réactif, la totalité des cellules d'un organisme et leurs interactions. Les seuls résultats d'un ou plusieurs modèles *in vitro*, ne pourraient garantir la réaction de l'ensemble de l'organisme, ignorée à l'évidence par ce type de modèle. C'est pourquoi une démarche de précaution élémentaire justifie de recourir à des études à l'échelle d'un organisme entier (Chapitre II, § 3.2, 3.6, 4).

1.2) Limites éthiques et scientifiques à l'utilisation de l'homme en biologie et médecines expérimentales

Les limites à l'expérimentation chez l'homme relèvent, en premier lieu, d'appréciations intuitives généralement partagées. Elles obéissent à quatre principes moraux reconnus par la bioéthique : le respect de l'autonomie, la non-malfaisance, la bienfaisance et la justice [21]. Les inconnues qui président à l'approfondissement des connaissances fondamentales ou aux essais en pharmacologie ou en sécurité du médicament impliquent de rigoureuses précautions rappelées dans la Déclaration d'Helsinki (2000) : « 11. *La recherche médicale sur des êtres humains doit se conformer aux principes scientifiques généralement reconnus. Elle doit se fonder sur une connaissance approfondie de la littérature scientifique et des autres sources pertinentes d'information ainsi que sur une expérimentation appropriée réalisée en laboratoire et, le cas échéant, sur l'animal* » [8].

Ces indispensables précautions, validées par les comités d'éthique hospitaliers, encadrent étroitement les essais réalisés chez l'homme. Elles sont fondées sur la vérification de la pertinence scientifique et éthique de chaque protocole expérimental.

1.3) Double parenté avec les animaux

Au-delà de l'évidence immédiate de la parenté liant l'homme aux mammifères, de leur appartenance au même règne, se sont forgées, au cours du XIX^e siècle, les bases scientifiques de ce concept jusqu'alors intuitif. Il s'agit de la parenté de construction avec la mise en évidence d'un principe de structure commun à tous les animaux : la structure cellulaire associée à une seconde

parenté, la filiation « buissonnante » établie dans les développements de la théorie de l'Évolution de Charles DARWIN (1809-1882) [22]. Les fondements zoologiques de la parenté de filiation ont été renforcés depuis une cinquantaine d'années par les spectaculaires progrès des connaissances en génétique. Cette double parenté justifie, si nécessaire, les termes de la Déclaration d'Helsinki. Elle pose le principe du recours raisonné à l'expérimentation animale.

1.4) Conscience des limites des modèles animaux

Cette double parenté garantit-elle les possibilités d'extrapolation à l'homme des observations réalisées sur les animaux ? Les associations dites « antivivisectionnistes » répondent clairement à cette question. Elles nient, dans leur ensemble, toute validité aux modèles animaux. Cette objection, en fait un prétexte, laisse supposer que s'il y avait un modèle animal de l'homme qui soit fiable, l'expérimentation animale serait, pour elles, acceptable. L'extrapolation à l'homme ou la mise en évidence d'un mécanisme physiologique peut quelquefois "résulter du choix d'un bon modèle" ainsi que l'avait dit Claude BERNARD, mais dans la majorité des cas, le "bon modèle" ne se trouve pas immédiatement à la disposition du chercheur. Cette absence de modèle absolu constitue, en réalité, une grande difficulté qui ne peut être contournée que par des démarches comportant toujours un degré d'incertitude (Chapitre I § 2.1).

Rappelons que la validité d'un modèle est fondée sur la similitude, chez le modèle et chez l'homme, des mécanismes impliqués dans le phénomène étudié, depuis la cause jusqu'à l'expression des effets. Qu'il s'agisse de mécanismes étudiés au niveau cellulaire ou moléculaire dans les modèles *in vitro* ou au niveau de l'organisme entier dans les modèles animaux, *in vivo*. Aussi, la proximité phylogénétique de l'espèce utilisée constitue-t-elle, *a priori*, un critère de choix logique. Si le rôle des primates se révèle quelquefois irremplaçable (maladies du système nerveux, infectiologie, immunologie), certaines particularités génétiques ou physiologiques propres à telle ou telle espèce font qu'il n'existe pas de modèle idéal et que des modèles aussi éloignés de l'homme que la drosophile ou l'embryon de poulet ont été néanmoins à la source de découvertes parmi les plus importantes (Chapitre I § 2.1).

La sélection de l'espèce ou des espèces, devant servir de modèle, ne peut se faire qu'à partir des données antérieures et par un processus d'essais/erreurs successifs. Il en résulte une grande prudence de la part des chercheurs conscients de la limite de leurs modèles, d'autant que dans leur choix interviennent, de façon complémentaire, aussi bien des considérations économiques que le souci de préservation de la biodiversité ou tout simplement des contraintes de praticité (de poids, de taille, de disponibilité...). Ceci conduit, dans des domaines critiques comme la toxicologie et la sécurité des produits de santé à élargir la mise en jeu d'épreuves d'évaluation chez plusieurs espèces. Le nombre de trois dont une « *espèce autre qu'appartenant à l'ordre des rongeurs* » a été ainsi retenu par la réglementation.

Autre critère de choix du modèle, l'homogénéité génétique constitue pour le chercheur une interrogation permanente. Une bonne homogénéité génétique lui assure une meilleure reproductibilité de ses résultats. A l'inverse elle peut conduire à ignorer des effets qui n'apparaissent

que chez une certaine partie des populations hétérogènes, ce qui est le cas de l'espèce humaine objet final de sa recherche.

En effet, en dehors de l'influence bien connue de l'âge ou du sexe, de nombreux accidents médicamenteux ont trouvé leur explication dans la variabilité génétique de l'espèce humaine, conduisant à la discipline baptisée « pharmacogénétique ». Les éléments clés de l'efficacité des médicaments, leurs cibles, les transporteurs, les enzymes, (activation des prodrogues ou inactivation métabolique) peuvent présenter une variabilité conduisant à de grandes différences d'effets [23]. Ainsi même l'homme ne peut être un modèle parfait pour tous les autres humains. Même s'il est aujourd'hui assez bien admis que peu de modèles animaux reproduisent la maladie de l'homme avec une grande fidélité et sous tous ses aspects, il est également bien établi qu'un modèle animal, même peu fidèle, peut malgré tout être d'un grand intérêt lorsqu'il est utilisé à bon escient. Les exemples susceptibles d'illustrer cette déclaration sont nombreux mais nous n'en avons choisi qu'un seul qui est, à notre avis, suffisamment péremptoire pour emporter la conviction : il s'agit de la modélisation de la maladie dite de Duchenne de Boulogne, une dystrophie musculaire très sévère qui affecte essentiellement les jeunes garçons vers l'âge de 2 ans et conduit à la mort en général avant l'âge de 20 ans. Il existe deux modèles animaux de cette maladie : le chien de race "Golden Retriever" (Chapitre II § 2.2.1) et la souris porteuse de la mutation *mdx*. La souris n'est pas cliniquement affectée et vit à peu près normalement jusqu'à un âge avancé. Le chien, au contraire, exprime une symptomatologie assez superposable à celle de l'homme et cela a suffi pour que cette espèce soit déclarée "bon modèle" et la souris "mauvais modèle".

En fait, cette conclusion est erronée et dangereuse [24]. Elle mérite par conséquent d'être nuancée. La première raison est que la comparaison homme-chien-souris, poussée à son terme, permettra de savoir un jour pourquoi la symptomatologie est si différente pour des maladies ayant néanmoins la même origine génétique ... ! La compréhension de cette différence, elle-même d'origine génétique, éclairera la pathogénie de la maladie de l'homme d'un nouveau jour et conduira probablement à de nouvelles perspectives de traitement. Une autre raison, également importante, est que la souris est la seule espèce dans laquelle on puisse, facilement effectuer des transplantations cellulaires sans risque de rejet, une approche thérapeutique très en pointe à l'heure actuelle. Enfin, et pour aussi imparfaite que soit la similitude du modèle, l'utilisation de souris constitue une approche parallèle au modèle « Golden Retriever », tout aussi fructueuse, plus fondamentale mais moins onéreuse et plus éthique par l'absence d'induction de signes pathologiques chez la souris.

2) Utilisation des modèles animaux

2.1) Modèles animaux en recherche fondamentale

William HARVEY (1578-1657), pionnier de l'étude de la circulation sanguine écrivait déjà en 1628 : "*Il faudra [...] confirmer ce qui est exact, réformer ce qui est faux, chercher la vérité à l'aide de dissections anatomiques, d'expériences nombreuses et d'observations attentives soigneusement faites*" [25]. Il posait ainsi le principe de l'expérimentation en physiologie dépassant la simple

observation souvent limitée à une coïncidence fortuite. Ce principe, repris et remarquablement illustré par les physiologistes François MAGENDIE, Claude BERNARD ou Hans SELYE, l'a été aussi dans toutes les disciplines fondamentales que ce soit en génétique, microbiologie, immunologie,

2.1.1) Un exemple de démarche expérimentale : la physiologie des glandes endocrines

Si la relation récepteurs membranaires –hormones et son contrôle médicamenteux peut être étudiée actuellement *in vitro*, la découverte des différents systèmes hormonaux s'est faite par expérimentation *in vivo*.

Les observations cliniques avaient conduit les médecins à formuler des hypothèses sur le rôle de certaines glandes. Chez divers modèles animaux, leur ablation, puis la compensation des effets de ces ablations par greffe ou par circulation croisée avec un animal entier a mis en évidence le rôle physiologique des glandes endocrines. Plus tard, l'injection d'extraits glandulaires puis des différentes hormones identifiées et purifiées, a permis de décrire chez les animaux des systèmes hormonaux qui confirmèrent les hypothèses des médecins. Ces systèmes constituent le fondement de la thérapeutique des troubles hormonaux mais aussi de certains cancers hormono-dépendants chez l'homme et les animaux. Le chien et le porc contribuèrent notablement à ces travaux. De la même façon pourrait être décrite une similitude de la démarche méthodologique pour la mise en évidence du fonctionnement de tous les systèmes physiologiques : systèmes nerveux central et périphérique, digestif, musculo-squelettique, cardio-vasculaire... avec pour chaque système la description des particularités humaines par l'association des observations cliniques aux méthodes de mesures non invasives, lesquelles sont appliquées maintenant chez l'animal (Chapitre II § 2.3.1).

2.1.2) Témoignages de chercheurs sur la démarche expérimentale

François JACOB, Professeur au Collège de France (chaire de génétique cellulaire – 1964-1991) Prix Nobel de physiologie ou médecine (1965) membre de l'Académie des Sciences (1977) et de l'Académie Française (1996) :

"Pour s'attaquer à un problème important, pour avoir une chance raisonnable de lui trouver une solution, le biologiste doit s'adresser à un matériel convenable. Un matériel qui permette de réaliser certains types d'expériences exigés par l'étude projetée. Au début du siècle, quand Morgan a voulu analyser l'hérédité, il a utilisé la mouche drosophile qui lui a permis de résoudre la question de la transmission des caractères. Au milieu du siècle, il s'agissait de préciser la nature chimique de l'hérédité, d'analyser les fonctions élémentaires de la cellule. Pour cela les biologistes moléculaires ont dû s'adresser aux bactéries qui seules se prêtaient à de telles études. Plus tard, quand le génie génétique livra accès au matériel génétique de n'importe quel organisme, la drosophile connut un regain de faveur. Elle offrit la possibilité d'étudier, pour la première fois, les bases génétiques du développement de l'embryon et des grandes fonctions de l'organisme. Après quoi, l'impensable découverte du maintien des mêmes structures régulatrices tout au long de l'évolution a permis d'accéder à l'étude des mammifères, en l'occurrence de la souris. [...] Ce petit animal (la souris) se prêtait à l'étude de l'immunité, mais les immunologistes utilisaient le lapin. On pouvait l'infecter avec certaines bactéries ou des virus pathogènes, mais c'était le cobaye qu'étudiaient surtout les bactériologistes. Enfin, c'était l'animal qui se prêtait le mieux à l'étude de certains cancers et des transplantations " 2000 [26].

Nicole LE DOUARIN, Professeur au Collège de France (1988-2000), Secrétaire perpétuelle honoraire de l'Académie des Sciences (2001-2005) :

"Quoiqu'il en soit, d'Aristote à Malpighi ou Gaspar Friedrich Wolf, nous retrouvons, indémodable, l'embryon de poulet. [...] L'adoption de l'embryon de poulet comme matériel expérimental repose sur plusieurs bonnes raisons. D'abord, il reste aisément accessible pendant toute la période du développement (ce qui n'est pas le cas pour les espèces vivipares). Ensuite, les oiseaux sont des vertébrés homéothermes, comme les mammifères : or le but ultime de la recherche biologique est bien de comprendre comment fonctionne l'homme pour mieux protéger sa santé, son bien-être et augmenter sa longévité. Les oiseaux ont encore en commun avec les mammifères d'être des vertébrés amniotes : leurs embryons sont enfermés, pour leur protection, dans une poche remplie de liquide, l'amnios.

L'embryon d'oiseau a été, dans l'époque moderne, à l'origine de plusieurs découvertes d'une grande portée. J'en évoquerai une qui me paraît avoir notoirement résulté des avantages présentés par ce modèle expérimental. Elle a trait à l'immunologie et a permis de révéler, grâce à une étrange particularité anatomique des oiseaux, l'origine précise de deux grands types de cellules immunitaires qui assurent l'intégrité de l'organisme". Il s'agit de la reconnaissance de la répartition des lymphocytes en deux populations distinctes, dont les rôles dans la réponse immunitaire sont différents. Cette étape est remarquable car elle a marqué le début de la compréhension des mécanismes cellulaires qui sous-tendent la réponse immunitaire aux infections. Elle a permis de mettre en évidence les interactions cellulaires qui conditionnent la production d'anticorps et la réponse aux infections virales. "Ainsi le délicat problème physiologique de l'existence de deux populations distinctes de lymphocytes qui se différencient dans des environnements cellulaires différents a-t-il été résolu un peu par hasard mais surtout grâce à la particularité anatomiques d'un modèle expérimental » 2000 [27].

Michel JOUVET neurobiologiste, Professeur émérite à l'Université Claude BERNARD (Lyon) Membre de l'Académie des Sciences (1977), Médaille d'or du CNRS (1989) :

« Mais c'est grâce au chat que le rêve fit son entrée en neurophysiologie. L'étude polygraphique du cycle éveil-sommeil par des électrodes chroniquement implantées au niveau des principales structures cérébrales et de différents groupes musculaires permit en effet de déceler, par hasard, à l'intérieur du sommeil, deux véritables états différents : l'un, de sommeil à ondes lentes, qui s'accompagne d'ondes corticales lentes et de grande amplitude et de la conservation du tonus musculaire; l'autre de sommeil profond caractérisé paradoxalement par une activité électrique cérébrale similaire à l'éveil, par des mouvements oculaires rapides et par une disparition totale du tonus musculaire. Ces périodes, que j'ai baptisées "sommeil paradoxal" en 1959, ont une durée moyenne de 6 minutes et surviennent toutes les 25 minutes au cours du sommeil. (Chez l'homme, la périodicité du sommeil paradoxal est de 90 minutes).

Très rapidement, on s'aperçut que le critère d'atonie musculaire existait également chez l'homme et que le rêve chez l'homme et le sommeil paradoxal chez le chat avaient le même substratum neurobiologique (au moins sur le plan physiologique). Il n'était donc plus question d'en faire un stade de sommeil léger. Le rêve devenait le troisième état du cerveau, aussi différent du sommeil que le sommeil l'est de l'éveil »1992 [24].

2.2) Modèles animaux en recherche appliquée

2.2.1) Médecine

Clé de la compréhension des maladies et de leurs futures thérapeutiques, la modélisation de leurs causes ou de leurs mécanismes intimes implique des expérimentations impossibles à conduire chez l'homme. Dans le cas de maladies infectieuses, l'approche pastorienne avec des modèles animaux demeure d'actualité. En pathologie organique il est classique d'induire des troubles métaboliques par des régimes appropriés ou par intervention directe sur des organes, comme dans le cas des affections cardiaques. Plus fructueux et plus proches de la réalité clinique les modèles à pathologie spontanée et les modèles transgéniques sont actuellement de plus en plus utilisés.

L'observation rigoureuse d'animaux de laboratoire ou l'exploitation de données vétérinaires ont permis d'identifier chez les animaux des troubles spontanés voisins de maladies observées chez l'homme, voire identiques. Ils constituent, de ce fait, des modèles d'étude des causes et des traitements possibles de ces maladies. Ces modèles sont utiles pour comprendre les mécanismes pathogéniques et pour évaluer et proposer des thérapeutiques, toutes informations utilisables ensuite en pathologie humaine. Par exemple, au sein de la race de chiens « Golden Retriever », un certain nombre de sujets sont atteints d'une myodystrophie présentant une grande similitude avec la myopathie de Duchenne (association de troubles musculaires, respiratoires et cardiaques). L'étude approfondie de la maladie chez le chien montre que son origine est identique. Il s'agit d'une mutation, équivalente à celle observée chez l'homme et la souris (Chapitre II § 1.4). Cette identité a déjà permis de progresser significativement, en particulier dans le domaine de la thérapie génique et du recours aux cellules souches, en expérimentant sur des chiens porteurs de la mutation (Annexe 12). Il en est de même avec certaines formes d'Amaurose Congénitale de Leber, maladie affectant à la fois l'enfant et le chien. La recherche thérapeutique a permis de mettre au point une thérapie génique, développée et validée chez le chien, qui s'applique aux enfants dès leur naissance et leur permet de recouvrer la vue [29].

Ces deux exemples soulignent tout l'intérêt de l'apport des travaux de la médecine vétérinaire et de la recherche clinique chez l'animal. Ils illustrent le fait qu'il n'existe qu'une seule médecine (« *one health, one medicine* »). A ce titre, les bénéfices de l'expérimentation animale sont quotidiennement partagés entre l'homme et les animaux qui l'entourent. Fondement de la médecine, la biologie dans ses grands principes physiologiques, est bien entendue commune aux humains et aux animaux. Le domaine de la procréation médicalement assisté en constitue une illustration heureuse. Depuis les années 1950, les techniques de l'insémination artificielle, de la fécondation *in vitro* (Pr C. Thibault, INRA) ou du transfert d'embryons, ont été progressivement mises en jeu dans le cadre de l'élevage des animaux domestiques. Cette longue expérience de l'intervention de l'homme dans les mécanismes naturels de la reproduction animale a notablement contribué à l'élaboration des techniques fondamentales de la procréation médicalement assistée, aujourd'hui source de bonheur de dizaines de milliers de couples de par le monde.

Prolongeant les modèles de pathologie spontanée, les modèles transgéniques obtenus par génie génétique ont l'avantage, grâce à la connaissance du génome des différentes espèces et à celle du déterminisme précis de quelques maladies génétiques humaines, de pouvoir reproduire ces maladies chez certaines espèces de laboratoire (techniques dites *knock out* et *knock in*) et de permettre d'en analyser les mécanismes intimes, moléculaires, tissulaires et organiques. Sans garantir une similitude absolue entre les réactions de l'animal transgénique et celles de l'organisme humain, ces approches autorisent l'évaluation précise, au niveau de la réaction génique, des effets de facteurs d'agression ou de modulation. Ces mécanismes intimes connus, la conception de thérapeutiques géniques ou chimiques peut être envisagée. Par ailleurs, c'est grâce aux techniques

de génie génétique que sont « humanisés » les anticorps monoclonaux de souris utilisés dans le traitement de certains cancers.

L'élevage d'animaux porteurs de lésions héréditaires, spontanées ou induites par génie génétique, pose un évident problème d'éthique, puisqu'on est amené à entretenir des lignées d'animaux malades. Sa résolution se trouve, non seulement dans l'application systématique du principe des 3R, mais surtout dans le comité d'éthique chargé de l'évaluation, la plus honnête possible quoique subjective, du rapport comparant le bénéfice pour l'homme aux préjudices imposés aux animaux considérés (Chapitre III § 2.2).

2.2.2) Chirurgie

En ce domaine les modèles animaux participent aux études de faisabilité des nouvelles techniques (ex. chirurgie de l'embryon) mais surtout interviennent dans l'approche de la tolérance des éléments réparateurs introduits dans l'organisme que ce soient des greffes d'éléments biologiques ou de prothèses, réalisées en biomatériaux, du type cœur artificiel, implants oculaires ou prothèses de hanche.

2.2.3) Toxicologie et Sécurité des produits de santé, Pharmacologie

En toxicologie et sécurité des produits de santé les modèles sont constitués par des animaux parfaitement sains, non consanguins, afin d'assurer une large détection des risques possibles. Ils sont soumis à des doses significatives des molécules à étudier selon des protocoles réglementés, fixant les espèces utilisées, les voies et les durées d'administration. Les effets pathologiques recherchés font eux-mêmes l'objet de dispositions réglementaires. Ces dispositions sont soumises à de constantes révisions ayant pour objet de limiter l'usage des modèles animaux et d'y substituer éventuellement, quand faire se peut, des techniques *in vitro*. Parallèlement à la toxicologie, la pharmacologie, utilise largement les modèles animaux sains comme substituts de l'homme pour le développement de nouvelles molécules thérapeutiques.

Dérivés des modèles sains, des modèles spécialisés correspondant à des troubles pathologiques précis sont artificiellement obtenus par intervention chirurgicale ou chimique. Il en est ainsi des porcs porteurs de ligatures des artères coronaires utilisés comme modèles de pathologie cardiaque, des rongeurs ou des primates dont certaines structures nerveuses ont été lésées chirurgicalement ou par voie chimique afin de disposer de modèles homologues aux maladies chroniques du système nerveux central humain. Peu fructueux sur le plan physiopathologique ces modèles sont essentiellement utilisés pour l'évaluation initiale des substances thérapeutiques.

2.3) Limites aux conditions d'utilisation

La prise en compte de considérations éthiques déjà rapportées (Chapitre I § 2.3 et 2.5) et des soucis d'efficacité conduisent les expérimentateurs à limiter spontanément le nombre d'animaux utilisés et les contraintes qu'ils leurs imposent.

2.3.1) Limitation du nombre d'animaux utilisés

Les progrès méthodologiques, souci permanent du chercheur, non seulement ouvrent de nouvelles perspectives de recherche mais permettent aussi de réduire sensiblement le nombre des animaux utilisés.

Ainsi, les méthodes classiques de l'histologie et de l'anatomie pathologique, mises en œuvre pour suivre l'évolution d'un phénomène ou le métabolisme d'une substance, nécessitaient antérieurement l'euthanasie de plusieurs groupes d'animaux représentatifs, chacun, de tranches de temps successives, réparties également au long de l'évolution du phénomène. L'imagerie médicale, maintenant bien adaptée aux petits animaux permet de n'utiliser qu'un même lot d'animaux du début à la fin de l'expérience. De plus elle n'inflige plus à ces derniers que des contraintes limitées en effet, non invasives elles sont pratiquées sous contention ou sédation. Par imagerie adaptée, on entend les techniques dites de micro-PET (Tomographie par Émission de Positons), de « micro computed tomography » (scanner), ou encore l'emploi de la bioluminescence (Tomographie par cohérence optique) et de l'IRM (Imagerie par résonance magnétique) et de l'IRMf (Imagerie par résonance magnétique fonctionnelle), modifiées pour correspondre aux dimensions des petits animaux [20]. Le développement de ces techniques permet de faire converger l'intérêt des animaux avec celui du chercheur (gain de temps, économies et fiabilité des résultats). La possibilité de suivre l'évolution d'un phénomène chez un même sujet et donc de conserver, tout au long de cette évolution, le même lot d'individus permet l'obtention de résultats statistiques plus fiables et plus puissants.

Sous un autre angle, plus en amont, une approche sélective de l'orientation des études toxicologiques telle que celle que propose d'adopter l'EFSA (Autorité Européenne de Sécurité Alimentaire), approche dite du seuil de préoccupation toxicologique (TTC – *Threshold of Toxicological Concern*), correspond tout à la fois à une nécessité et à une volonté d'économiser non seulement les moyens financiers et le potentiel humain mais encore les animaux (Annexe 13).

2.3.2) Limitation des contraintes imposées aux animaux

Objet du troisième R de Russel et Burch (*Refinement*) la limitation des contraintes imposées aux animaux, leur bienveillance, constitue une préoccupation permanente tout à la fois éthique et pratique. Elle correspond à la recherche de la qualité des résultats, à leur fiabilité et par voie de conséquence à la réduction des contraintes et du nombre d'animaux utilisés.

Fondamentale, l'amélioration constante de la qualité de l'environnement des animaux, clé de leur santé et de leur homogénéité, a débuté à la fin des années 1950 en Amérique du Nord et à la fin des années 1960 en Europe avec la création d'associations professionnelles spécialisées et l'édition de guides pratiques comme le « Guide for the care and use of laboratory animals » de l'Institute of Animal Resources et l'« UFAW handbook on the care and management of laboratory animals » régulièrement réédités, depuis 1947 pour le premier. Ces préoccupations ont été reprises par la réglementation notamment dans l'annexe à la Directive européenne 86/609 révisée de 1996 à 2006. Au-delà des règles de bienveillance, un effort particulier a été entrepris par l'ensemble de la communauté pour veiller à enrichir l'environnement des animaux afin d'enrichir leur expression comportementale spécifique [30].

Parallèlement l'amélioration constante des techniques expérimentales : biomarqueurs de plus en plus sensibles, méthodes d'exploration externes indolores comme la télémétrie, anesthésiques locaux et généraux plus sûrs et plus efficaces, permettent de réduire les agressions et les contraintes imposées aux animaux à défaut de leur remplacement. Ces techniques contribuent aussi à l'amélioration de la qualité des résultats expérimentaux.

2.4) Aspects économiques et pratiques

Une objection souvent formulée à l'encontre de l'expérimentation animale, par certaines associations de protection animale, est qu'il s'agirait de pratiques techniquement dépassées destinées à assurer des revenus financiers considérables aux laboratoires concernés.

Cette critique cumule un certain nombre de confusions ou d'erreurs, et elle ne pourrait être éventuellement avancée qu'à l'encontre de l'industrie du médicament, alors que l'expérimentation animale concerne tous les domaines de la recherche biomédicale et de la biologie. Bien évidemment la plus grosse erreur d'évaluation est de penser que l'expérimentation animale est une démarche de moindre coût génératrice de bénéfices financiers. En réalité, acheter des animaux de laboratoire dont la sélection et l'élevage ont mis en œuvre des moyens intellectuels et matériels de haut niveau, les entretenir dans des conditions de logement, d'alimentation et de soins de qualité, répondant au double objectif de satisfaire aux obligations réglementaires et de prévenir tout incident au fil de l'expérience, correspond à un investissement considérable (Annexe 14). Celui-ci est sans comparaison possible avec l'équipement de quelques locaux consacrés à des cultures cellulaires ou au fonctionnement des équipements informatiques nécessaires aux méthodes *in silico*. De plus, certaines études de toxicité (généralement imposées réglementairement) nécessitent des lots d'animaux de taille très importante et des temps d'étude pouvant atteindre plusieurs années.

Aux coûts financiers s'ajoutent les difficultés de toutes sortes, y compris les interrogations morales auxquelles sont confrontés les expérimentateurs et les risques physiques (blessures, éventuellement contaminations) qu'ils prennent lors de la manipulation des animaux. On peut supposer que si malgré cela les laboratoires, quelle que soit leur finalité, ont recours à l'expérimentation animale, c'est qu'en dépit de tous les inconvénients cités, il s'agit de la seule démarche actuellement utilisable pour répondre scientifiquement à la plupart des nombreuses questions qui leur sont posées ou qu'ils se posent.

3) Des méthodes substitutives

3.1) Préalable : méthodes substitutives et méthodes alternatives

Les deux qualificatifs attribués à différentes méthodes : alternatives ou substitutives sont souvent associés et généralement confondus par les non spécialistes et par le grand public. L'attitude alternative découle directement de la règle des 3 R, de W.RUSSEL et R.BURCH (1959), qui vise à améliorer globalement la condition des animaux de laboratoires. Les trois principes proposés par ces auteurs constituent des principes alternatifs, une remise en cause des habitudes antérieures. Il s'agit de la réduction du nombre d'animaux utilisés (*Reduction*), de leur remplacement (*Replacement*) et de la mise en jeu de techniques les moins contraignantes possibles pour l'animal (*Refinement*). Le qualificatif de substitutives est donc limité aux méthodes de remplacement et celui d'alternatives à l'ensemble des trois (Annexe 15).

La confusion entre méthodes alternatives et substitutives entraîne souvent un biais dialectique. Celui de confondre, ou de feindre de confondre, les résultats significatifs obtenus dans l'amélioration de la condition des animaux de laboratoire par les approches alternatives et les perspectives offertes par le nombre limité de méthodes mises au point dans le domaine de la substitution.

A ce propos, il doit être rappelé que la base de données PubMed enregistrait une augmentation spectaculaire des publications en recherche biomédicale (10.267 références en 2002,

22.343 en 2004, et 43.770 en 2006) alors que le nombre d'animaux utilisés restait relativement stable (11,6 millions en 1996 pour l'Europe à 15 membres et 12,1 millions en 2005, pour l'Europe à 25 membres, 12 millions en 2010 pour l'Europe à 27). Cette constatation résulte directement de l'amélioration des protocoles expérimentaux et d'une meilleure utilisation des modèles, mais pour partie seulement [31].

La réduction relative de l'utilisation des animaux de laboratoire (rapport nombre d'animaux sur nombre de publications) est essentiellement due au développement de la biologie moléculaire et à l'orientation des recherches vers la physiologie et la pathologie cellulaires, disciplines fondées sur des techniques *in vitro*.

Cependant, il faut garder à l'esprit que ces méthodes, hormis le cas des lignées cellulaires (immortelles du fait de leur origine ou immortalisées), impliquent que la plupart des cellules (à l'exception des cultures de cellules humaines) et des organes utilisés soient prélevés chez un animal ayant subi une biopsie ou ayant été euthanasié à des fins de prélèvement (explants primaires).

3.2) Réglementation européenne : l'ECVAM (« European Centre for the Validation of Alternative Methods »)

La fiabilité des méthodes substitutives destinées à remplacer les modèles animaux, quelles soient dites *in vitro* (cultures de cellules ou de tissus) ou *ex vivo* (après prélèvement sur un animal) ou encore *in silico* (simulations informatiques), est cruciale dans les disciplines dont les résultats engagent directement la responsabilité morale et juridique des expérimentateurs ainsi que celle du législateur. Au-delà de cette double responsabilité on peut s'interroger sur celle de l'organisme de validation des méthodes substitutives (l'ECVAM pour l'Europe) et de ses comités d'experts qui inspirent directement le législateur. Dans les disciplines fondamentales, si la modélisation substitutive présente un intérêt théorique et pratique considérable ses échecs n'entraînent ni la responsabilité juridique des expérimentateurs ni celle du législateur. Les expérimentateurs risquent tout au plus le désaveu de leurs pairs et, exceptionnellement, le jugement de l'histoire de leur discipline.

Sont donc essentiellement concernées par les garanties de fiabilité des méthodes substitutives la pharmacologie, la toxicologie et la sécurité des produits de santé qui mettent en jeu des tests de vérification, la plupart du temps réglementés. Ces tests utilisent de grandes quantités d'animaux, souvent dans des conditions de contrainte relativement sévères.

La substitution de ce type de tests fait l'objet d'une démarche officielle de recherche et de validation dans le cadre européen. Une organisation dédiée a été créée en 1991 en application des articles 7 et 23 de la directive européenne 86/603 relative à la protection des animaux vivants, l'ECVAM. Sa structure centrale de réflexion, l'ESAC (ECVAM Scientific Advisory Committee), se consacre à l'évaluation scientifique et technique des méthodes de substitution et à leur officialisation [32]. Ces méthodes sont par ailleurs listées, sur le plan mondial, dans le répertoire des lignes directrices de l'OCDE (Organisation de Coopération et de Développement Économiques). L'ECVAM ne se limite pas à rechercher des méthodes nouvelles se substituant à l'emploi d'animaux. Il valide aussi des méthodes *in vivo* qui permettent de réduire les effectifs impliqués, en particulier par l'utilisation de méthodes statistiques appropriées.

3.3) Toxicologie et sécurité des produits de santé

Parmi les disciplines biomédicales, la toxicologie se présente comme la plus avancée en matière de mise en œuvre des méthodes alternatives et plus particulièrement des méthodes substitutives.

À l'origine, la sécurité sanitaire du médicament réglementée dans ses méthodes, garantissait essentiellement le contrôle d'innocuité des médicaments et plus largement celui des produits de santé. Or l'utilisation dans la plupart des domaines industriels de molécules toujours plus nombreuses, amène à généraliser la réglementation du contrôle toxicologique à toute molécule de synthèse, quel que soit son domaine particulier d'application : ménager, hygiène, santé, industriel ou phytosanitaire.

Afin de respecter la demande sociétale, ce nouveau développement réglementaire doit s'accompagner de la promotion de méthodes ne faisant pas ou peu appel aux modèles animaux comme en toxicologie où les progrès les plus sensibles en matière de substitution des modèles animaux ont été jusqu'à présent effectués. Ces progrès s'expliquent tant par la prise en considération des problèmes éthiques par les expérimentateurs et par les pouvoirs publics, que par la nature même du phénomène toxique. En effet, il est plus facile de modéliser par un système biologique simple ou artificiel le dérèglement d'un organisme complexe comme celui de l'homme que d'en simuler le détail du fonctionnement en prenant en compte l'ensemble des interactions. Un test *in vitro* actuellement en cours de validation, le test EvaTOX, objet du programme Vitaltox, illustre cette affirmation (Annexe 16).

Enfin, le souci grandissant de la maîtrise du risque toxicologique individuel ou environnemental (écotoxicologie) amène les pays occidentaux à envisager, sans délais, presque dans l'urgence, l'examen réglementaire de milliers de molécules anciennes et nouvelles. Dans l'Union Européenne la mise en jeu du Règlement REACH (Annexe 17) avec les méthodes de la toxicologie classique supposerait l'utilisation de millions d'animaux, ce qui n'est pas éthiquement satisfaisant, tout en étant très coûteux et source de délais très importants. Il reste à l'ECVAM, en Europe, et à l'OCDE, sur le plan international, à sélectionner, valider, réglementer et diffuser les méthodes susceptibles de remplacer, ou à défaut, réduire le nombre d'animaux utilisés.

Depuis 1991, date de sa création, l'ECVAM a validé et introduit dans la réglementation européenne 14 tests dont :

- sept en toxicité cutanée,
- deux en toxicité oculaire et toxicologie systémique aiguë,
- un en sensibilisation cutanée,
- un en phototoxicité,
- un en absorption cutanée.

Les tests validés à ce jour comprennent huit tests substitutifs *in vitro* et cinq tests alternatifs, deux *ex vivo* et trois *in vivo* (deux en toxicologie systémique et un en sensibilité cutanée (Annexe 18).

En considérant à court-moyen terme la prise en compte des tests en cours d'homologation scientifique ou administrative, il pourrait être envisagé :

- en toxicité cutanée, six tests substitutifs homologués et un test substitutif en cours d'étude;
- en toxicité oculaire, deux tests alternatifs homologués et quatre tests alternatifs en cours d'étude (cinq *ex vivo* et un *in vivo*);
- en sensibilisation cutanée, un test substitutif homologué et deux tests alternatifs (*in vivo*) en cours d'étude;
- en mutagenèse, absence de test homologué et un test substitutif en cours d'étude;
- en toxicologie systémique aiguë, deux tests alternatifs (*in vivo*) homologués ; cinq tests alternatifs (*in vivo*) et un test substitutif (*in vitro*) en cours d'étude;
- en toxicologie chronique, pas de test homologué, aucune étude en cours;
- en reproduction, absence de test homologué, trois test substitutifs en cours d'étude (avec sacrifice des géniteurs);
- parmi les divers, deux tests substitutifs homologués (phototoxicité et absorption cutanée), un test substitutif en cours d'étude (toxicité des œstrogènes) (Annexe 18).

Dans une perspective de moyen-long terme et comme elle le fait depuis 1990 (projet Bridge), l'Union Européenne soutient en 2011, 28 projets de conception et de mise au point de tests à visée substitutive ou pour le moins à visée alternative, avec un budget de 50 millions d'euros (Annexe 19). Selon les disciplines, ces projets concernent la toxicologie (17), la pharmacologie (8), la technologie commune (culture de tissus, bioinformatique) (3). Les tests proposés dans ces projets font appel pour vingt à des techniques *in vitro*, pour un à une technique *in vivo* et sept utilisent éventuellement des résultats obtenus *in vivo*. A noter que 6 projets concernent des approches combinatoires (« *computational toxicology* »).

Actuellement aucun test concernant les sections majeures de la toxicologie que sont la toxicologie chronique, la toxicologie de la reproduction, ou la cancérogenèse n'a été validé. Par ailleurs ceux relatifs à la toxicologie systémique ne constituent que des améliorations alternatives d'épreuves *in vivo*, à l'exception du test EvaTOX, en cours d'évaluation et de validation au sein de l'ECVAM (Annexe 16).

Ce bilan très limité, ne permet pas, dans la situation actuelle et à partir des seuls tests validés par l'ECVAM, d'envisager d'importants gains en animaux et en temps dans le cadre du programme REACH ou dans celui de la toxicologie générale. Ce déficit est cependant partiellement couvert par la possibilité de recourir à un certain nombre de tests *in vitro* dépourvus de validation officielle et seulement recommandés, par l'OCDE, (Annexe 20) [33].

3.4) Pharmacologie

Malgré les difficultés à vaincre pour mettre en évidence des effets pharmacologiques, sur des systèmes simples, hors de l'organisme, les pharmacologues, à l'image des physiologistes ont été amenés, dans un premier temps, à développer pour leurs propres besoins des techniques plus ou moins complexes d'organes isolés maintenus artificiellement en vie ou modèles *ex vivo*. Puis

approfondissant les effets des molécules au niveau cellulaire ils ont fait appel à des modèles *in vitro*, constitués de tissus réactifs, produits à partir de cellules souches.

L'évaluation expérimentale des effets pharmacologiques n'est entamée qu'après une phase initiale de criblage des molécules les plus prometteuses en matière d'efficacité et d'innocuité, tri réalisée par voie informatique ou *in silico*, à partir de bases importantes de données sur les rapports structure-activité.

Il est évident que la démonstration de l'activité d'une molécule, même prouvée par des épreuves *in vitro*, doit prendre en compte son devenir dans l'organisme par des épreuves de pharmacocinétique conduites *in vivo*, d'abord chez des modèles animaux, puis chez l'homme. La simulation du devenir de la molécule dans l'organisme humain à partir de données élémentaires obtenues *in vitro*, sans passer par les modèles *in vivo* constitue un des défis que tente de relever actuellement la bioinformatique. Dans un souci de modernisation de la Pharmacopée Européenne par l'introduction de méthodes *in vitro* ou *in silico* validées, l'EDQM (Direction Européenne de la Qualité du Médicament et des Soins de Santé), a mis en place un programme de standardisation biologique encourageant le développement et organisant la validation de ces méthodes en pharmacologie et pharmacocinétique [33].

3.5) Contrôle d'efficacité et d'innocuité des produits immunologiques

Consommateurs d'un grand nombre d'animaux de laboratoire, en particulier parce que réalisés en double (par l'industriel et par l'administration) les contrôles de la fabrication des produits biologiques ont fait l'objet d'un effort important de la part de l'ECVAM et l'EDQM. Les procédures relatives à la toxicité générale (vaccins humains) et les tests de sécurité (vaccins vétérinaires) ont été considérablement allégés par la mise en jeu de procédures d'assurance qualité lors de la fabrication. Parallèlement trois tests substitutifs ont été validés et introduits dans la Pharmacopée Européenne : la recherche d'endotoxines bactériennes en remplacement du test d'apyrogénicité, conduit chez le lapin; le dosage par HPLC des hormones substitué aux essais *in vivo* pratiqués chez la souris; enfin, le dosage des antigènes par test ELISA, se substituant aux tests immunologiques réalisés jusqu'alors chez la souris [33].

3.6) Les limites des méthodes *in vitro*

3.6.1) Rappels

N'utilisant pas exclusivement des cellules et tissus humains les méthodes *in vitro*, en plus des méthodes *ex vivo* telles que les organes isolés, impliquent l'euthanasie d'un nombre non négligeable d'animaux.

Par ailleurs, il ne doit pas être perdu de vue que le développement des techniques *in vitro* est en grande partie liés aux progrès de la biologie cellulaire et de la biologie moléculaire.

3.6.2) Reproductibilité

Bien que les « *Good Cell Culture Practices* » soient largement utilisées, la standardisation des souches et des méthodes de culture, bien que largement facilité par les banques de lignées

cellulaires, pose le problème général de la reproductibilité d'un certain nombre de technique *in vitro* [34]

Il faut garder en mémoire que les cultures utilisent des lignées cellulaires transformées, ce qui signifie, schématiquement, que ces cellules ont les caractéristiques de cellules souches ou de cellules cancéreuses. À la limite à leur utilisation introduite par la nature propre de ces cellules s'ajoute le fait que leur maintien en vie exige dans la majorité des cas, la présence d'intervenants, soit artificiels (addition de nombreux facteurs de synthèse ou produits par des bactéries génétiquement modifiées), soit naturels (sérum de fœtus d'animaux,...) mais non dépourvus de risques sanitaires. Cet ensemble de facteurs nécessaires à la culture des cellules affaiblit le principe de leur reproductibilité et donc la fiabilité des méthodes proposées.

3.6.3) Durée de la démarche de validation

Le délai de validation des méthodes *in vitro* est une autre limite à leur mise en pratique. Dans le cas de l'expérimentation animale cette démarche vise à démontrer à la communauté scientifique, aux industriels ainsi qu'au législateur l'aptitude d'une méthode *in vitro* à remplacer, pour le même objectif de sécurité ou d'efficacité, un test conduit chez des animaux et d'utilisation courante ou réglementaire. Il est important que la démarche de validation des méthodes substitutives soit assurée par un organisme indépendant, l'ECVAM en Europe, et qu'elle fasse l'objet d'une reconnaissance internationale, celle de l'OCDE, ne serait-ce que par respect des règles de compétitivité.

Or la démarche de validation est longue (pratiquement 20 ans pour les tests d'aprogénicité) Sur le plan scientifique elle doit faire la preuve non seulement de sa reproductibilité mais aussi de son efficacité à détecter les propriétés toxiques d'un maximum de familles moléculaires ce qui peut entraîner des études longues, coûteuses et consommatrices d'animaux, en cas d'insuffisance ou d'absence de données antérieures. Il convient de ne pas oublier l'important travail réalisé par les comités d'experts successifs nécessaires à l'obtention d'avis consensuels et fiables.

Dans tous les cas l'expérience montre que la validation des tests *in vitro*, dans l'état de la Science et dans l'organisation technico-administrative actuelle, demande au minimum 10 ans.

La clé d'une accélération de la validation des méthodes substitutives réside dans un financement significatif des différents organismes concernés, mais l'essentiel demeure la mise en commun des données. Un mécanisme de coopération internationale est en train de voir le jour, l'International Cooperation Alternative Test Methods (ICATM). Il regroupe l'Interagency Coordinating Committee on Validation of Alternative Methods (ICCVAM américain), l'ECVAM et leurs équivalents canadien et japonais.

Les résultats de cet effort de coopération, sont attendus, en particulier par tous ceux (industriels ou administrations) qui responsables de la mise à la disposition du public de molécules de synthèse, ne souhaitent qu'être assurés de la validité des méthodes de contrôle, sans avoir d'*a priori* sur leur nature *in vivo* ou *in vitro*.

3.7) Les limites des méthodes *in silico*

Fondées sur l'interprétation de bases de données importantes par des stratégies informatiques, les méthodes, baptisées *in silico* par évidente analogie avec *in vivo*, sont largement utilisées lors des opérations de criblage des molécules à visées thérapeutiques. Les stratégies d'analyse prennent en compte les rapports déjà connus entre les structures moléculaires et leurs propriétés pharmacologiques. Elles permettent un gain de temps et de moyens financiers considérables par rapport aux opérations classiques de criblage conduites sur les animaux de laboratoire. Ces deux arguments, indépendants de l'éthique de protection des animaux de laboratoire, ont convaincu très rapidement les industriels du médicament. L'approche du criblage des molécules thérapeutiques est facilitée par le fait que les propositions de synthèse adressées aux chimistes se fondent sur la connaissance antérieure de propriétés observées sur des systèmes moléculaires naturels ou sur des lignées moléculaires artificielles qui serviront de référence lors du criblage des nouvelles molécules.

Dans le domaine de la toxicologie le niveau d'incertitude est plus grand. Les références antérieures font défaut en particulier lors de la synthèse de molécules à partir de données uniquement physico-chimiques. Il est possible de s'interroger, dans cet ordre d'idées, sur l'évaluation toxicologique des molécules issues des nanotechnologies. En un mot, la puissance des méthodes *in silico* est liée à celle de leurs bases de données. Elle peut être mise en défaut en l'absence de références fiables, ce qui n'est pas crucial en pharmacologie mais qui risque de l'être en toxicologie et en particulier en toxicologie industrielle ou encore en écotoxicologie.

Par ailleurs il existe une limite intrinsèque aux perspectives de développement des méthodes *in silico* :

"Le calcul du nombre de conformations et d'interactions possibles d'une simple protéine en trois dimensions excède la capacité des ordinateurs les plus puissants; c'est d'ailleurs une des questions les plus complexes de la biologie contemporaine. Cette complexité, fondée sur la richesse des interactions possibles d'éléments simples, est encore accrue par l'apparition de propriétés émergentes résultant de la combinaison à grande échelle des fonctions élémentaires. Pour le moment, il est difficile de comprendre la nature de ces nombreuses interactions, essentielles pour la santé ou la maladie, sans une compréhension biophysique plus poussée des règles d'auto-assemblage des molécules biologiques, de leurs interactions quantitatives et de leurs mécanismes de contrôle basés sur des lois de reconnaissance moléculaire non encore entièrement comprises". Elias ZERHOUNI, professeur à l'université Johns Hopkins, directeur du National Institute of Health (2002-2008), professeur associé au Collège de France, chaire d'Innovation Technologique, leçon inaugurale, 20 janvier 2011.

4) Des approches synthétiques ou combinatoires.

Constatant les difficultés rencontrées et le retard pris dans le développement et la validation de méthodes capables de se substituer aux modèles animaux il a été recommandé la création de structures suscitant et organisant des projets de coopérations pluridisciplinaires. En Europe, au moins trois organismes indépendants : AXLR 8 (pour Accelerating the transition to a toxicity pathway-based paradigm for chemical safety assessment through internationally co-ordinated

research and technology development), ECOPA (European Consensus-Platform for Alternatives) et IVTIP (In Vitro Testing Industrial Platform, initiée et soutenue par les services de la Communauté Européenne) regroupent chercheurs universitaires et chercheurs appartenant à plusieurs secteurs industriels. Ils visent à remplacer ou pour le moins à réduire le nombre des animaux utilisés en toxicologie en coordonnant la recherche et la diffusion des méthodes du futur. Ces dernières, fondées sur des disciplines, telles que la bioinformatique ou la génomique, interviendraient dans le cadre de systèmes intégrés faisant appel aux données obtenues *in vivo*, *in vitro* et *in silico*, chez les invertébrés, ou chez les vertébrés, dont les mammifères et l'homme (Annexe 21).

Aux États-Unis, l'EPA (Environmental Protection Agency) et le NCCT (National Center for Computational Toxicology), membre du NIEHS (National Institute of Environmental Health Sciences), en collaboration avec l'USEPA (US Environment Protection Agency), le NIH (National Institute of Health) et la FDA (Food and Drug Administration) développent depuis 2009 un programme équivalent : le CompTox (pour Computational Toxicology Research Program) (Annexe 20).

Dans une perspective un peu plus élargie l'Agence Française de Sécurité des Produits de Santé (AFSSAPS) a mis en place, en 2009, un Groupement d'Intérêt Scientifique (GIS), FRANCOPA, dont le but est de favoriser le développement de méthodes alternatives permettant de réduire ou de supprimer le recours à l'animal de laboratoire notamment dans le développement, l'évaluation et le contrôle des produits de santé et des substances chimiques. FRANCOPA regroupe des organismes ministériels : Ministère chargé de la Recherche, AFSSAPS, INERIS (Institut National de l'Environnement et des RISques), ANSES (Agence Nationale de Sécurité Environnementale et Sanitaire, ex ANSSET), des organismes de recherche : INSERM, CNRS, des représentants des branches industrielles concernées : UIC (Union des Industries Chimiques), FEBEA (Fédération des entreprises de la beauté), LEEM (les Entreprises du Médicament), la SPTC (Société de Pharmacotoxicologie Cellulaire) et deux associations de protection animale : l'OPAL (Recherche Expérimentale et Protection de l'Animal de Laboratoire), et la Fondation Française des Droits de l'Animal, Éthique et Science (LFDA) [35]. Notre pays rejoint ainsi les pays européens disposant d'une plateforme nationale et réunis au sein de la plateforme européenne ECOPA (European Consensus Platform on 3 R Alternatives to Animal Experimentation)[36].

Il est évident que les moyens maintenant engagés dans le développement de méthodologies de type combinatoire en toxicologie, devraient dans le futur aboutir à un certain nombre de tests qui pourraient réduire tout aussi sensiblement l'utilisation des animaux de laboratoires en pharmacologie. Une première étape, pourrait concerner les études de métabolisme qui dans leur principe devraient se prêter assez facilement aux simulations informatiques.

5) Conclusions

La complexité des organismes ne peut pas être modélisée par la simple addition de systèmes biologiques élémentaires. Le caractère hautement intégratif de la Vie amène les disciplines de la biologie en général et les disciplines biomédicales en particulier, à utiliser lorsque nécessaire, de manière raisonnée et limitée, des modèles de niveau de complexité similaire à l'homme : les animaux de laboratoire.

La recherche fondamentale, qu'elle soit physiologique, immunologique ou génétique, est actuellement plus orientée vers les approches cellulaires et moléculaires. Cependant, elle ne peut que recourir aux animaux de laboratoire lorsqu'elle veut intégrer au niveau de l'organisme entier les résultats obtenus *in vitro*. Il en est de même pour les recherches concernant la connaissance des mécanismes physio-pathologiques fondement des thérapeutiques médicales et chirurgicales.

En toxicologie et sécurité des produits de santé ou en pharmacologie les approches *in vitro* ou *in silico*, permettent, avec leurs propres limites, au-delà de la satisfaction d'un plus grand respect de la vie et du bien-être des animaux, la réalisation d'importantes économies de temps et de moyens financiers. Le développement spontané de leur emploi et leur introduction dans la réglementation se heurtent actuellement à l'insuffisance des propositions issues de la recherche et à la lourdeur des opérations de validation.

Le bilan très limité des méthodes *in vitro* et *in silico* ainsi que des raisons tant économiques qu'éthiques amènent la communauté scientifique internationale et les pouvoirs publics à faire un important effort humain et financier, afin de développer, grâce aux progrès de la bioinformatique, des méthodes dites combinatoires. Ces méthodes ont pour objectifs l'analyse et la synthèse des bases données antérieures associées aux résultats les plus récents obtenus par le faisceau expérimental rassemblant méthodes *in vitro*, *in vivo* et *in silico*. Chacune de ces approches demeure indispensable car chacune d'elles contribue par son éclairage spécifique à la connaissance synthétique des phénomènes du vivant à l'échelle de l'organisme, humain ou animal, dans son intégralité.

CHAPITRE III

PRATIQUE DE L'EXPERIMENTATION ANIMALE.

FONDEMENTS D'UNE ATTITUDE ACADÉMIQUE

Des chapitres I et II du présent rapport se dégagent quatre principes généraux qui pourraient constituer les fondements d'une attitude propre à notre (nos) académie(s). Il s'agirait :

- de réaffirmer un préalable incontournable : le recours à l'expérimentation animale est indispensable aux progrès de la connaissance et de la médecine, dans l'état actuel de la Science;
- d'exprimer à l'égard des animaux de laboratoire un respect fondé sur leur caractère d'êtres sensibles et leur origine phylogénétique commune avec l'homme;
- de reconnaître que la démarche expérimentale en biologie en général et en biomédecine en particulier, utilise, sans *a priori* et de manière objective, l'ensemble des possibilités méthodologiques qu'elle a créées;
- de définir les conditions d'un dialogue sociétal fondé sur la connaissance et le respect mutuel.

1) Premier fondement : le recours à l'expérimentation animale est indispensable

Les développements et les conclusions du deuxième chapitre démontrent le caractère incontournable, actuellement et probablement pour longtemps encore, de la nécessité de recourir à des modèles animaux dans les disciplines biomédicales.

Les méthodes *in vitro* et *in silico* sont limitées pour l'instant à des approches fondamentales de nature moléculaire ou cellulaire, à certains aspects de la toxicologie ou au tri initial des molécules en pharmacologie. Elles ne peuvent prendre le relais des modèles animaux que de manière partielle (chapitre II § 3). De plus, les méthodes *in vitro* n'excluent pas, lors de leur mise en jeu, l'euthanasie d'un certain nombre d'animaux. Elles respectent, parfois avec difficulté, le critère scientifique de reproductibilité des résultats et demeurent handicapées par d'importants délais de validation dans le domaine réglementaire (Chapitre II § 3. 6). Les méthodes *in silico*, pour leur part, voient leurs applications pratiques restreintes, actuellement, au tri pharmacologique et toxicologique des molécules et dans le futur à une participation, certes importante, mais partielle aux approches combinatoires (Chapitre II, § 4).

L'utilisation de modèles animaux, à défaut d'expérimenter sur l'homme, constitue le seul moyen, pour l'instant, capable de rendre compte, de manière synthétique, de la complexité des réactions d'un organisme. A ce titre les méthodes *in vivo* interviennent, fructueusement et depuis plus d'un siècle, dans l'ensemble des disciplines biomédicales, soit en amont soit en aval des méthodes *in vitro* (Chapitre I § 2.2).

La condition en est, bien entendu, que chaque modèle soit utilisé rationnellement, en toute conscience de ses limites, et dans un cadre réglementaire et éthique bien défini. (Chapitre II § 1 et § 2).

2) Deuxième fondement : la sensibilité des animaux et leur proximité de l'homme impliquent qu'ils soient respectés

De façon schématique la prise en compte du caractère d'être sensible et de l'origine phylogénétique des animaux, dans le domaine de l'expérimentation animale, peut être abordée à deux niveaux. Dans une approche prioritaire, l'objectif est d'éliminer des protocoles d'expérience la douleur, manifestation extrême de la sensibilité. Puis, au-delà de la douleur, l'utilisation raisonnée des animaux et leur bien-être, doivent viser à limiter leur emploi et à leur assurer, tout au long de leur destin de modèle, un état physique et mental qui peut être considéré comme un état de bien-être. Ces approches avaient été proposées dès 1985 par Michael A. FOX dans son ouvrage « *The care for animal experimentation. An evolutionary and ethical perspective* » [37]. Elles inspirent aujourd'hui largement la législation et l'attitude éthique de la communauté scientifique envers les animaux

2.1) Maîtrise de la douleur

Le fait que l'animal soit reconnu comme un être sensible est généralement rapporté en France à la loi de 1976 sur la protection de la nature, car ce texte introduisait, pour la première fois, cette notion dans notre appareil législatif. Il serait évidemment tout à fait erroné de considérer qu'il a fallu arriver à la promulgation de cette loi pour que cette notion soit connue des expérimentateurs et prise en compte dans leurs pratiques. Certes, les physiologistes du début du XIX^e siècle se sont trouvés dans la situation d'expérimenter alors qu'il n'existait pas de moyens anesthésiques réellement efficaces, aussi bien en médecine humaine qu'en médecine vétérinaire. C'est d'ailleurs sans doute pour cela qu'un de leurs premiers domaines d'intérêt fut la sensibilité et le rôle du système nerveux sensitif. Le fait que l'animal soit un être sensible n'avait pas échappé à Charles BELL (1774-1842) et François MAGENDIE. Aussi, leurs noms restent-ils attachés aux rôles des racines nerveuses périphériques, sensitives ou motrices, premières connaissances établies en physiologie du système nerveux.

Dès qu'elle a été disponible, l'anesthésie a été utilisée aussi pour l'expérimentation, hormis les quelques domaines où elle pouvait interférer avec les résultats de l'expérience et rendre celle-ci inutile du fait de la modification ou de l'abolition, par l'anesthésique, des réponses étudiées. Les expérimentateurs ont, dans ces situations, cherché et adopté des solutions palliatives dont, sans doute, le meilleur exemple se trouve dans les domaines de la neurophysiologie de la douleur et de la pharmacologie des antalgiques qui demandent, l'un comme l'autre, de provoquer chez l'animal d'expérience, une douleur maîtrisée, limitée le plus souvent à son seuil de perception. L'identification des risques de douleur lors de la présentation des projets d'expérimentation aux comités d'éthique constitue avec les recommandations et la surveillance de la mise en jeu de procédures analgésiques, une des activités majeures de ces comités (Annexe 22).

2.2) Au delà de l'éradication de la douleur, limiter le recours aux animaux vivants et assurer leur bien-être constituent les bases d'une attitude éthique.

Comme cela a déjà été rapporté (chapitre I §2.2.3) ce sont deux initiatives issues de la communauté des chercheurs : la règle des "3R" et le concept des comités d'éthique qui constituent le fondement actuel des comportements éthiques en matière d'expérimentation animale, et ce, bien au delà de la simple prévention de la douleur. Cette approche éthique de l'expérimentation animale est actuellement exigée de la quasi-totalité des revues scientifiques.

2.2.1) les trois « R »

Dans le souci d'améliorer la condition animale, deux scientifiques anglais, William RUSSELL (zoologiste 1925-2006) et Rex BURCH (microbiologiste (1926-1996) ont édicté un principe connu sous le nom de "règle des 3R", dont l'esprit a servi ensuite de base à des réglementations nationales et européennes (Chapitre I § 2.4) [12]. Les trois lettres "R" sont les initiales de "*Replacement*", "*Reduction*", et "*Refinement*".

"*Replacement*" signifie qu'il faut substituer des préparations insensibles aux animaux vivants et/ou conscients. Ce terme pose le principe des méthodes substitutives qui visent à remplacer les animaux occupant une position systématique élevée soit par des animaux situés plus bas dans l'échelle zoologique soit par des préparations d'organes, de tissus ou de cellules isolés (Chapitre II § 3).

"*Reduction*"_concerne le choix d'effectifs moins nombreux dans une expérience. Ce principe, *a priori* d'application simple, est en réalité la recherche d'un délicat compromis statistique. L'accroissement des effectifs est souvent nécessaire, voire indispensable pour assurer la significativité et conserver la puissance statistique des résultats, qui, si elle n'est pas obtenue, rend l'expérience inutile. La prise en compte de la nécessité de réduire les effectifs a conduit à développer de nouvelles modalités d'évaluation des toxicités (Chapitre II § 3.3).

"*Refinement*" désigne toute réduction de la sévérité des procédures, en évitant ou en réduisant la douleur, l'inconfort et toute autre catégorie de mal-être ou en accroissant le bien-être des animaux. Ce principe est souvent un facteur d'amélioration de la qualité de l'expérience, en supprimant les réactions qui peuvent être induites par la douleur ou le stress et qui sont susceptibles d'interférer avec les résultats. On inclut aussi dans "*Refinement*" tout ce qui peut améliorer la qualité et le rendement de l'expérience (par exemple par le choix des méthodes (Chapitre II § 3.2).

2.2.2) « Enrichment »

Parallèlement à la démarche « *Refinement* » doit être rapportée l'introduction dans les années 1980 du concept éthologique d'« *Enrichment* » visant par l'enrichissement de l'environnement des animaux à améliorer leur bien-être et par voie de conséquence leur bien-être. Les résultats de cette démarche sont encore discutés tant sur le plan de l'adéquation des modalités d'enrichissement à l'espèce considérée que sur celui des interférences possibles avec les résultats expérimentaux [30].

2.2.3) Rapport bénéfique pour les humains / préjudice pour les animaux

Les trois principes de W.RUSSEL et R.BURCH qui déterminent une attitude « alternative » sont maintenant complétés par la prise en compte du rapport liant le bénéfice attendu pour la santé humaine au préjudice subi par l'animal. Ce rapport introduit par les auteurs anglo-saxons et qui à l'évidence ne peut être mathématique, demeure une base de réflexion formelle et déterminante dans la décision d'agrément d'un protocole expérimental par un comité d'éthique ou par les autorités désignées par le législateur.

2.2.4) Les comités d'éthique

C'est à une initiative canadienne (1969) que l'on doit la création de comités chargés de réfléchir et de formuler un avis consultatif sur les projets d'expérimentation (Chapitre I § 4.2.4). Cette démarche s'est progressivement étendue dans le monde pour atteindre la France au début des années 1990, d'abord dans l'industrie du médicament et dans les laboratoires du ministère de la Défense, puis dans les grands organismes de recherches publics au début des années 2000. L'évolution de ces comités s'est déroulée en deux phases.

Dans un premier temps, en dehors de toute référence officielle ou réglementaire, des initiatives spontanées se sont inspirées des modèles anglo-saxons puis se sont concertées au sein d'un groupe de travail du GIRCOR (Groupe Interprofessionnel de Réflexion et de Communication sur la Recherche), le GRICE (Groupe de Réflexion Interprofessionnel sur les Comités d'Éthique appliquée à l'animal de laboratoire), afin de confronter et optimiser leurs expériences.

Conscients de la nécessité de codifier l'activité de ces comités spontanés mais prévus dans leur principe par l'article R-214-122 du Code rural, les ministères chargés respectivement de l'Agriculture et de la Recherche ont créé le Comité National de Réflexion éthique sur l'Expérimentation Animale (CNREEA), avec pour mission particulière la rédaction d'une charte nationale. Siègent au sein de ce comité des représentants des ministères concernés, de la médecine humaine et de la médecine vétérinaire, des associations de protection animale ainsi que de personnalités qualifiées en philosophie, sociologie et sciences juridiques. La Charte nationale rédigée par le CNREEA puis adoptée le 23 juin 2009 par les deux ministères est retranscrite, ci-dessous, dans son intégralité.

En effet, elle donne une idée très précise des bases et des modalités pratiques d'une attitude éthique envers les animaux de laboratoire. Elle a recueilli l'adhésion de plus de cinquante comités d'éthique et devrait obtenir assez rapidement celle d'une autre cinquantaine de ces comités. De ce fait, en 2012 une centaine de comités d'éthique homologués par leur adhésion à la charte nationale devraient assurer en France le rôle consultatif prévu par le règlement européen 2010/63/UE dont la transcription en droit français est en phase de rédaction.

La Charte nationale portant sur l'éthique de l'expérimentation animale

Article 1 : Respect de l'animal

L'éthique de l'expérimentation animale est fondée sur le devoir qu'a l'Homme de respecter les animaux en tant qu'êtres vivants et sensibles.

Article 2 : Responsabilité individuelle

Tout recours à des animaux en vue d'une expérimentation engage la responsabilité morale de chaque personne impliquée.

Article 3 : Responsabilité des institutions

Les institutions sont moralement responsables des expérimentations pratiquées, en leur sein, sur des animaux.

Article 4 : Compétences

Cette responsabilité implique à tous niveaux d'intervention une formation éthique et des compétences réglementaires, scientifiques, techniques appropriées aux espèces utilisées et dûment actualisées.

Les compétences spécialisées sont recherchées aussi souvent que nécessaire auprès d'experts en physiologie, éthologie ou médecine, des animaux concernés.

Article 5 : Principes généraux

Une réflexion sur le bien-fondé scientifique, éthique et sociétal du recours aux animaux doit précéder toute démarche expérimentale.

Le recours aux méthodes et techniques visant à supprimer ou à réduire au strict minimum les atteintes aux animaux doit être systématiquement recherché. Leur développement et leur promotion doivent être largement favorisés.

Le souci d'optimiser les conditions de vie, d'hébergement et de soins des animaux utilisés doit être permanent et s'exprimer tout au long de leur vie.

Le recours à l'avis d'un comité d'éthique doit précéder toute expérimentation impliquant des animaux.

Article 6 : La démarche éthique

Toute expérimentation impliquant des animaux doit être précédée d'une réflexion sur :

- l'utilité de l'expérimentation envisagée par rapport à des travaux conduits par ailleurs;
- la pertinence des méthodes choisies et le niveau de probabilité d'aboutissement à des résultats tangibles;
- l'absence de méthodes substitutives adéquates pour poursuivre une finalité identique;
- l'adéquation entre les modèles animaux envisagés et les objectifs scientifiques poursuivis;
- l'importance des atteintes aux animaux comparée à l'intérêt des résultats attendus;
- la prise en compte des caractéristiques biologiques et cognitives des espèces concernées;
- la nécessité de garantir que le choix des espèces, lorsqu'il s'agit d'espèces non domestiques, ne menace pas la biodiversité;
- la limitation du nombre d'animaux utilisés au minimum nécessaire;
- le choix des conditions de vie, d'hébergement, de soins et d'utilisation des animaux, de sorte que soient respectés le mieux possible leurs besoins physiologiques et comportementaux.

Article 7 : Rôle des comités d'éthique

Chaque comité d'éthique constitue un lieu de dialogue et de réflexion.

Il donne des avis sur les projets d'expérimentation impliquant des animaux qui lui sont soumis, en se référant aux principes énoncés dans la présente Charte.

Ces avis sont motivés et peuvent être assortis de recommandations.

Chaque comité d'éthique participe à la promotion de l'ensemble des principes d'éthique énoncés dans la présente Charte.

Article 8 : Composition des comités d'éthique

Chaque comité d'éthique réunit les compétences pluridisciplinaires qui lui permettent d'émettre des avis éclairés. La société civile et la médecine vétérinaire y sont représentées.

Article 9 : Déontologie des comités d'éthique

Tout comité d'éthique doit être indépendant, impartial et garantir la confidentialité des dossiers qui lui sont soumis. Il prend en compte les avis ou recommandations du Comité national de réflexion éthique sur l'expérimentation animale

2.2.5) La mort de l'animal de laboratoire.

Au-delà du choix des techniques d'euthanasie, bien codifiées par la réglementation, se posent deux questions d'ordre éthique :

. la prise de décision d'abrèger, en cours d'expérience, les souffrances d'un animal est l'objet de la part de la communauté scientifique d'une réflexion approfondie ; il s'agit d'éviter, par une démarche de surveillance rigoureusement organisée, de laisser un animal dépasser un état de détresse que les anglo-saxons qualifie d'« end point », locution généralement traduite en français par « point limite » ou « point critique » [38] (Annexe 23) ;

. l'euthanasie simultanée de lots importants de rongeurs ou celle de chiens ayant longuement séjourné en animalerie (toxicologie chronique) est souvent mal vécue par le personnel technicien ou animalier ; ce malaise longtemps ignoré des responsables d'équipes de recherche fait actuellement l'objet, de leur part, d'une prise en compte visant sa prévention (Chapitre III § 4.1).

2.2.6) « Réhabilitation ou « Rehoming » de l'animal de laboratoire.

Depuis quelques années à l'étranger et maintenant en France, une alternative à l'euthanasie en fin d'expérience est proposée par des associations de protection animale. Avec l'accord des établissements scientifiques concernés, des chiens, chats, primates, plus rarement des rongeurs, ou des sujets d'espèces moins conventionnelles [39] sont pris en charge par des associations de protection animale telles que le GRAAL (Groupement de Réflexion et d'Action pour l'Animal) [40]. Ces associations se chargent de les confier à des particuliers ou à des parcs zoologiques, moyennant des garanties de bienveillance ultérieure. Les animaux confiés doivent être sains, exempts de toute séquelle et présenter des traits de comportement laissant supposer une adaptation aisée à leur futur environnement physique et social (Annexe 24).

3) Troisième fondement : rationalité, objectivité et diversité président à la démarche expérimentale

Le principe de toute démarche expérimentale repose sur la rationalité de quatre étapes successives de raisonnement : analyse critique de l'état de la question ou observation originale d'un phénomène, hypothèse, expérimentation, déduction. C'est par ce type de raisonnement que Louis PASTEUR (1822-1895) a pu réfuter la théorie de la génération spontanée ou Claude BERNARD (1813-1878) établir le principe fondamental de l'équilibre du milieu intérieur. Par ailleurs, ce dernier formalisera le premier, de manière magistrale, la démarche expérimentale à propos de la recherche en physiologie [41].

A leur suite, l'ensemble de la recherche biomédicale ne progresse que par l'enchaînement régulier de ces quatre étapes. La pertinence de la déduction réside dans la qualité et la fiabilité de l'expérimentation. Lorsque l'objet final d'étude peut être directement engagé dans le processus expérimental l'esprit critique du chercheur peut se porter uniquement sur les caractéristiques de l'environnement et sur la fiabilité des mesures. Dans le cas de recherches visant soit directement soit

indirectement la santé de l'homme se pose le problème d'une étape intermédiaire, celle du modèle, l'expérimentation sur l'homme étant le plus souvent impossible (Chapitre I, § 1.2).

La double parenté structurelle et phylogénétique liant l'homme aux animaux (Chapitre I, § 1.3) a amené et amène toujours biologistes et médecins à utiliser des modèles animaux. Conscients de la limite de ce type de modèles (Chapitre I § 1.4) les chercheurs bâtissent leurs choix grâce à un ensemble complexe d'arguments combinant la pertinence scientifique, le respect de l'éthique et de la réglementation à des impératifs pratiques : connaissance antérieure du modèle, disponibilité, maîtrise de la maintenance de l'espèce considérée, considérations économiques, etc..

Cette problématique du choix est importante. Clé de la fiabilité des résultats et de leur interprétation, elle engage souvent la carrière du chercheur, si ce n'est le devenir de son équipe ou du laboratoire. Les responsables des organismes coordonnant et finançant les recherches ne pardonnent que rarement les erreurs de jugement dans le choix des modèles utilisés. L'importante diversité constatée dans les modèles mis en jeu par les lauréats des prix Nobel de physiologie ou de médecine de 1901 à 2011 (Chapitre I § 2.2, Annexe 1) illustre la complexité d'un choix que certains imaginent naïvement limité à l'anonyme et populaire « cobaye ».

Largement utilisées par la biologie cellulaire ou moléculaire, les méthodes *in vitro* et *in silico*, peuvent apparaître, *a priori*, comme des substituts de l'homme tout a fait satisfaisants sur le plan éthique et particulièrement tentants en matière de coût et de praticité. Malheureusement, le caractère hautement intégratif de la Vie limite les possibilités de ces modèles dès qu'ils sont interrogés dans le cadre de problématiques ayant pour objet l'ensemble d'un organisme qu'il soit humain ou animal (Chapitre II § 5). Les données obtenues *in vitro*, à propos des effets d'agents agressifs ou de modulateurs, ne peuvent constituer que des facteurs orientant les hypothèses formulées quant à la réaction globale de l'organisme. Les mécanismes de régulation aux différents étages de ce dernier peuvent tout aussi bien amplifier qu'annuler les phénomènes observés à l'échelle moléculaire ou cellulaire.

L'intérêt de ces hypothèses, issues des expérimentations *in vitro* ou de l'approche *in silico*, réside dans leur relative spécificité. Elles réduisent le champ des investigations *in vivo* limitant ainsi le nombre d'animaux utilisés et accroissant l'efficacité des moyens humains et financiers consacrés à l'objectif de santé poursuivi. De ce fait, on assiste dans toutes les disciplines visant la santé de l'homme ou des animaux à un va-et-vient permanent entre les expérimentations primaires réalisées *in vitro* et les démarches de confirmation *in vivo*, et ce, le plus souvent au sein de la même équipe de recherche. En effet, le retour vers *in vitro* pour expliciter des résultats obtenus *in vivo* est tout aussi important. Il vise à éclairer, à comprendre, l'origine des phénomènes observés *in vivo*, afin d'en définir des approches toujours plus ciblées.

Pour aller plus loin dans le domaine de l'efficacité et dans celui de l'éthique, la bioinformatique se propose de faciliter, d'optimiser, le dialogue entre les approches *in vitro* et *in vivo*. Confortés par les succès des méthodes de tri informatique des molécules à propriétés pharmacologiques ou toxiques, méthodes dites *in silico*, la communauté scientifique et les pouvoirs publics investissent d'importants moyens humains dans des approches combinant l'ensemble des méthodes disponibles dans le but d'accélérer les progrès des disciplines biomédicales tout en réduisant sensiblement le recours à l'expérimentation sur animaux vivants. (Chapitre II § 4) Nous sommes ici loin de la naïveté de ceux qui pensent, parfois, en toute bonne foi, qu'il suffit d'interroger

les échelles moléculaires ou cellulaires, avec ou sans l'aide de moyens informatiques, pour résoudre tous les problèmes que posent la santé de l'homme et celle des animaux en ce début du XXI^e siècle, sans avoir recours aux modèles animaux.

4) Quatrième fondement : vers un apaisement du débat sur l'expérimentation animale par un dialogue et un respect mutuel

Comme cela a été précédemment abordé la controverse sur l'expérimentation animale ne peut être résolue par une argumentation rationnelle (Chapitre I § 4.1 et 4.2). Certains voudraient faire croire qu'elle ne porte que sur des faits objectifs (nécessité reconnue, ou non, du recours aux modèles animaux). Elle repose en fait sur un conflit opposant la représentation que chacun se fait des animaux au principe de rationalité et d'expérimentation dans le cadre de l'acquisition de la connaissance. En l'absence d'une solution ne faisant appel qu'à la rationalité, la controverse pourrait être partiellement apaisée par la prise en compte, par les deux partis, d'un certain respect mutuel, fondé lui-même sur un dialogue et sur des obligations librement consenties

4.1) La communication, un des devoirs de l'expérimentateur

Le fait d'être, en quelque sorte, délégué par la Société pour développer la connaissance et améliorer la santé humaine, doit conduire l'expérimentateur à réfléchir sur la perception de ses activités par ses concitoyens. Il s'agit pour lui de prendre en compte la sensibilité non seulement des animaux qu'il utilise, mais aussi celle de ses contemporains, témoins indirects de ses activités scientifiques.

A cette fin, il se doit d'expliquer clairement, sans condescendance, ses buts et ses moyens, en un mot, il doit communiquer. Pour le public neutre, non engagé dans la protection des animaux, comme pour les analystes spécialisés, l'insuffisance de la communication des expérimentateurs et des organismes de recherche constitue le principal reproche qui leur est adressé ([9] (Chapitre I § 3.1).

Le recours aux animaux de laboratoire doit être conduit en toute transparence. Cela se fait à l'échelle des statistiques nationales et internationales ou au niveau des comités d'éthique. Mais c'est aussi au niveau individuel, celui de l'expérimentateur ou de l'organisme de recherche, que la transparence doit devenir une règle de conduite, le prétexte de secret devant pouvoir être surmonté, si nécessaire, par quelques précautions compatibles avec une présentation sincère des méthodes utilisées.

Une autre interrogation souvent adressée par le public aux expérimentateurs, en particulier à ceux qui utilisent des primates comme modèles, concerne le respect de la biodiversité et les éventuelles atteintes à la faune sauvage. En ce domaine aussi la communication des expérimentateurs et des organismes de recherche est insuffisante. Porter à la connaissance du public les dispositions réglementaires européennes ou nationales en la matière et présenter les capacités actuelles des élevages de primates, devraient suffire à rassurer, à ce propos, leurs contemporains.

De façon parallèle à l'insuffisance de communication des expérimentateurs vers le public, il peut être observé une insuffisance de communication au sein même des organismes de recherche. La relation nouée par les techniciens animaliers avec les animaux dont ils s'occupent et dont ils ont la responsabilité, n'est pas toujours vécue comme cela devrait être. Par faute d'informations précises

ou d'explications suffisantes il arrive que cette catégorie de personnel, recrutée en raison de son intérêt pour les animaux, souvent attachée à ces derniers, puisse supporter difficilement son exercice professionnel, notamment la pratique de l'euthanasie en fin d'expérimentation. Cette situation est observée de façon extrême, dans le cas des expérimentations de toxicologie chronique conduites chez des chiens mais on peut tout aussi bien la constater à propos des euthanasies de rongeurs. La prise en compte de ce malaise doit guider l'attitude des expérimentateurs, notamment leur communication, avec le personnel chargé de l'entretien des animaux.

4.2) Les devoirs de la Société

Au premier pas que doit faire l'expérimentateur, la Société s'exprimant essentiellement à travers des médias suffisamment éclairés et compétents, devrait répondre par des prises de positions équilibrant les informations fournies par les organismes de recherche et celles issues des associations dites « antivivisectionnistes ». Il s'agirait, en particulier, de s'assurer de la véracité des faits avancés par les uns et par les autres, avant toute publication.

En second lieu, l'usage de la violence ne devrait faire l'objet d'aucune indulgence aussi bien de la part des médias que de la Justice. Toutes les personnes, telles que les expérimentateurs, qui travaillent dans un cadre légal, méritent, à défaut de la reconnaissance de leurs compétences, de leur bonne foi ou de leurs sens de l'éthique, un minimum de respect de la part de leurs concitoyens. Ce respect doit s'exprimer par une sécurité garantie et par un soutien affirmé des médias dans le cas de violences avérées. Quel que soit le romantisme que certains journalistes peuvent, ouvertement ou discrètement accorder aux « actions commandos » de quelques « antivivisectionnistes » il doit être rappelé qu'il ne s'agit là que de l'expression de la volonté d'une minorité d'imposer ses opinions par la force. Avec parfois des conséquences désastreuses pour des animaux « libérés » et placés dans de nouvelles conditions de vie naïvement improvisées.

Par ailleurs, il est du devoir des pouvoirs publics et des médias de jouer pleinement leur rôle respectivement éducatif et vulgarisateur. Il leur faut rappeler aux protecteurs des animaux et aux associations dites « antivivisectionnistes » la contradiction existant entre les exigences de santé, de longévité ou la systématisation du principe de précaution et l'arrêt de l'expérimentation animale. Il leur faut témoigner d'une vérité incontournable : l'expérimentation animale demeure indispensable aux progrès des disciplines biologiques et médicales, à l'exception d'une partie de la toxicologie.

Davantage concernées que le grand public, les associations de protection animale qui expriment des points de vue modérés (Chapitre III § 3.3) ou les associations de malades qui soutiennent la recherche biomédicale, devraient avoir la liberté, chacune en ce qui la concerne, de s'engager publiquement et clairement contre les actions violentes et les propos extrémistes des associations dites « antivivisectionnistes » radicales.

Enfin, aux enfants et adolescents particulièrement sensibles en ce domaine, le respect des animaux doit être enseigné avec diligence, mais aussi avec rigueur, sans sombrer dans un anthropomorphisme complaisant. Ce devrait être le rôle de l'ensemble des enseignants et notamment, au niveau des lycées et collèges, celui des professeurs des Sciences de la Vie et de la Terre dans la mesure où eux-mêmes recevraient, en ce domaine, une formation de qualité.

4.3) Pour une écoute réciproque.

Lors de la création de la Commission Nationale de l'Expérimentation Animale, le législateur, dans un souci d'apaisement et de dialogue a prévu la participation des représentants des associations reconnues de protection des animaux. Depuis, la participation régulière de ces associations s'est révélée constructive. Bien qu'elles ne dissimulent pas leur objectif final de suppression de l'expérimentation animale, ces dernières sont demeurées modérées dans leurs propos et leurs objectifs immédiats. Il serait souhaitable que la sincérité de leur modération soit retrouvée dans leurs prises de position publiques.

Le même climat de dialogue et de respect réciproque a été constaté lors des débats qui ont abouti à la rédaction collective de la charte nationale portant sur l'expérimentation animale et qui se poursuivent actuellement au sein du Comité National de Réflexion sur l'Éthique en Expérimentation Animale.

L'élargissement du dialogue instauré aux représentants de la société civile, leur participation aux débats des deux instances nationales, la Commission Nationale de l'Expérimentation Animale et le Comité National de Réflexion sur l'Éthique en Expérimentation Animale est tout à fait souhaitable. La présence d'interlocuteurs tels que des membres du Conseil Économique et Social, des membres des associations de malades ou des associations de consommateurs enrichirait les discussions et donnerait une assise plus étendue et plus objective aux propositions des deux instances nationales.

Moins officielles, tout aussi fructueuses, et bien que nécessitant de vaincre des réticences de part et d'autre, les visites de laboratoires par des petits groupes de personnes concernées par la controverse, permettent un dialogue direct tout à fait profitable à l'instauration d'un climat apaisé. À condition, bien entendu, que les expérimentateurs les accueillent en toute sincérité et que réciproquement, les bénéficiaires de ces visites aient ensuite la volonté d'en témoigner, aussi bien au sein de leurs associations que publiquement.

Enfin, il a été regrettable de constater, lors des quelques débats publics sur l'expérimentation animale, que des attitudes et arguments dits de communication favorisaient certes le climat d'affrontement souhaité par les animateurs mais certainement pas une information objective du public ou une écoute réciproque.

CONCLUSION

Avis de l'Académie Vétérinaire de France sur l'expérimentation animale, son rôle dans la recherche et sa perception dans la société.

L'Académie vétérinaire de France

observant que le recours à l'utilisation d'animaux à des fins de recherche scientifique est controversé par un certain nombre de nos concitoyens :

- les uns adhérant à des idées philosophiques mettant l'homme sur un strict pied d'égalité avec l'ensemble des autres espèces animales;
- d'autres manifestant une compassion spontanée vis-à-vis des animaux, exprimée à propos de toute situation dans laquelle ces derniers sont maltraités ou risquent de l'être ;
- d'autres enfin, parfois scientifiques eux-mêmes, contestant la validité des modèles animaux comme source fiable de connaissances en pathologie humaine et vétérinaire ;

considérant :

- qu'en santé humaine et animale, la société exprime une exigence croissante qui implique un effort considérable de recherche ;
- que l'expérimentation animale a joué et joue encore un rôle décisif dans l'acquisition des connaissances biologiques et dans leurs contributions aux progrès de la médecine ;
- que l'expérimentation chez l'homme ne peut être envisagée que dans un nombre limité de situations strictement définies par les principes de la bioéthique, tels les essais cliniques indispensables à l'évaluation de nouveaux traitements ; et qu'en conséquence, le recours aux animaux de laboratoire reste incontournable, en particulier, pour évaluer l'innocuité et l'efficacité de toute innovation thérapeutique ;
- que depuis la directive européenne de 1986 sur l'utilisation des animaux à des fins scientifiques, complétée, en France, par le rapport du Ministre Hubert Curien en 1992, le respect des animaux lors de la pratique de l'expérimentation animale a indéniablement progressé grâce, notamment, à une législation spécifique, à la formation des personnels, à la mise aux normes des animaleries et à l'examen *a priori* des protocoles expérimentaux par des comités d'éthique adhérents à une charte nationale ; les insuffisances observées dans la communication des expérimentateurs et de leurs tutelles font que ces progrès sont le plus souvent ignorés du public ;
- que les progrès des méthodes alternatives ou substitutives *in vitro* sur cellules ou lignées cellulaires ou *in silico* par simulations bioinformatiques contribuent notablement à la réduction du nombre d'animaux utilisés à des fins scientifiques ;

- mais que ces approches se situent à l'échelle moléculaire ou subcellulaire et que les conclusions auxquelles elles aboutissent doivent pouvoir être réévaluées à l'échelle intégrative de l'organisme ;

- que les méthodes substitutives en toxicologie et en biosécurité, ne peuvent être validées qu'avec circonspection et lenteur, étant donné les enjeux de santé publique et juridiques qu'elles sous-tendent ; la substitution totale, même en toxicologie, n'est pas actuellement envisageable ;

réaffirme¹

- le rôle irremplaçable des modèles animaux dans les recherches en Sciences de la Vie, fondamentales et médicales ; une recherche qui, à terme, ne s'appuierait que sur des modèles *in vitro* et *in silico* se limiterait d'elle-même, en ignorant la complexité des processus biologiques à l'échelle de l'organisme ;

recommande :

- que l'effort largement engagé d'un usage optimisé, raisonné et respectueux de la vie animale se poursuive en conformité scrupuleuse avec les lois nationales et les directives européennes et qu'il s'enrichisse sans cesse d'échanges interactifs entre toutes les composantes de la réflexion sur la pratique et l'éthique de l'utilisation des animaux de laboratoire : organismes nationaux officiels, comités d'éthique, organisations professionnelles, académies des Sciences de la Vie... ;

- que le dialogue, amorcé depuis quelques années par deux organismes officiels, la Commission nationale de l'Expérimentation Animale et le Comité national de Réflexion sur l'Éthique en Expérimentation animale avec certaines associations de protection animale soit plus largement ouvert aux représentants de la société civile, associations de malades, de consommateurs, membres du conseil économique et social... et soit conduit avec détermination, afin que puisse se poursuivre, dans un climat apaisé, une recherche biologique et médicale correspondant aux attentes de la société et prenant en considération l'évolution de sa conception des relations entre l'homme et les animaux.

Cet avis adopté, par l'Assemblée académique lors de sa séance du 21 juin 2012, constitue la conclusion du rapport « *Recherche Scientifique et Expérimentation Animale. Etat de la question* », de la Commission « Relations Homme-Animaux » de l'Académie Vétérinaire de France.

¹Avis de l'Académie Vétérinaire de France sur la proposition de loi relative "au recours à la vivisection et à l'utilisation des animaux domestiques en laboratoires" déposé par M. le Député Flory. Avis adopté par l'Académie Vétérinaire de France le 10 mai 2007

BIBLIOGRAPHIE

Références citées dans le rapport

1. Anonyme .*Droit Animal, Éthique, et Sciences*, n° 69, avril 2011, p2
2. DENOIX DE SAINT MARC Renaud.« *Les animaux ont-ils des droits ?* » Communication présentée à la séance du 23 mai 2011 de l'Académie des Sciences morales et politiques.
3. MARGUENAUD Jean-Pierre. *Expérimentation animale entre droit et liberté*. Ed Quae, Versailles, 2011
4. CHAPOUTHIER Georges. *Les droits de l'animal par rapport aux droits de l'homme aujourd'hui*. In : Quedraogo A. P. , Le Neindre P. (eds) . *L'homme et l'animal, un débat de société*. Paris: INRA, 1999, 33-40.
5. FAINZANG Sylvie . *Le rapport à l'animal dans la recherche médicale. Esquisse d'un projet de recherche*.In : Quedraogo A. P., Le Neindre P. (eds). *L'homme et l'animal, un débat de société*. Paris: INRA,1999, 169 -174.
6. KOURILSKY Philippe « *Changements d'échelle et mutualisation mondiales des moyens en biologie* » « Mondialisation de la Recherche » Colloque Collège de France 14 et 15 octobre 2010
7. LEJEUNE Michel, TOURAINE Jean-Louis. Rapport « *Sur l'expérimentation animale en Europe. »* « *Quelles alternatives ? Quelle éthique ? Quelle gouvernance ?* » Office Parlementaire D'évaluation Des Choix Scientifiques Et Technologiques. Décembre 2009. n°2145 (Assemblée nationale) et 155 (Sénat)
8. Déclaration d'HELSINKI (2000) Site :[www. Genethique.org/carrefour_infos/ textes_officiels](http://www.Genethique.org/carrefour_infos/textes_officiels) .
9. RONDAUD Annabelle. *L'expérimentation animale : une controverse stagnante ? Approche communicationnelle*. Thèse en sciences de l'information et de la communication. Paris IV – Sorbonne –Celsa. 2011.
10. KHAN Sarah, *The role of the World Organization for Animal Health (OIE) in the development of international standards for laboratory animal welfare* p 727-730 Proc. of 6th world congress on alternatives and animal use in the life sciences august 21-25, Tokyo, Japan.
11. ANIMAL AID. *Victims of charity. A report on the cruel and scientifically invalid experiments funded by medical research charities*. Site: [www. animalaid. org.uk](http://www.animalaid.org.uk)
12. RUSSEL William , BURCH Rex. *The principles of humane experimental technique*. Springfield, Illinois Charles Thomas, 1959.
- 13 MILHAUD Claude. *Vers le bien-être des animaux de laboratoire par la bientraitance*. Sci. Tech. Anim. Lab (2006),2,135-140

- 14 CNEA : www.ethique.ipbs.fr/ Commission Nationale de l'Expérimentation animale.
- 15 HABERMAS Jürgen. *L'avenir de la nature humaine. Vers un eugénisme libéral ?* Gallimard. Essais Paris. 2002.
- 16 HOTTOIS Gilbert. *La philosophie à l'épreuve de la bioéthique « Un monde meilleur pour tous »* Colloque européen 2006, Collège de France, Odile Jacob, Paris, 2008.
17. OMS. *World Malaria Report* Site: www.who.int/malaria/world_malaria_report_2010
18. Site : www.safermedicines.org
- 19 LE HIR Pierre. *Les français se fient à la science pas aux chercheurs*. Le Monde, 06 Juin 2011
20. FLORY Jean-Claude. Proposition de loi relative "Au recours à la vivisection et à l'utilisation des animaux domestiques en laboratoires" déposée le 15 février 2007 par M. le Député J-C. FLORY.
21. BEAUCHAMP Tom L., HILDRESS James F..« *Les principes de l'éthique biomédicale* » Editions Les Belles Lettres, 2008.
22. GOULD Stephen J. *Ever Since Darwin*. Pelican, Gretna (USA), 1977
23. BOUREL Michel et ARDAILLOU Raymond. *Pharmacogénétique et Pharmacogénomique*. Rapport adopté par l'Académie Nationale de Médecine le 31 janvier 2006. Bul. Acad. Natle Méd. (2006) 190, n°1, 9-24.
24. GUENET Jean –Louis. *Animal models of human genetic diseases: do they need to be faithful to be useful?* Mol. Genet. Genomics,(2011) 286:1–20.
25. HARVEY William. *De motu cordis*, 1668
26. JACOB François. *La Souris, la Mouche et l'Homme*. Odile Jacob, Paris, 2000
27. LE DOUARIN Nicole. *Des chimères, des clones, des gènes*. Odile Jacob, Paris, 2000
28. JOUVET Michel. *Le sommeil et le rêve*. Odile Jacob Paris, 1992
29. JACOBSON S.G. et al. *Gene therapy for Leber congenital amaurosis caused by RPE65 mutations: safety & efficacy in 15 children & adults followed up to 3 years*. Arch. Ophthalmol. (2012) 130(1):9-24,
30. BAUMANS V. *Science based assessment of animal welfare: laboratory animal*. Rev. Sc. Tech. Off. Int. Epiz. (2005) 24(2), 503-514
31. Site: www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/etec.europa.eu/chemicals/labanimals
32. IVTIP : www.ivtip.org
33. FABRE Isabelle . *Méthodes substitutives à l'expérimentation animale: aspects réglementaires , état de l'art et perspectives*. Bull.Acad.Vet.France (2008) 161, (5),403-407

34. ALTEX. *Alternatives to animal experimentation in basic research*, ALTEX (2004) 21, sup 1:3-31
35. Site : www.Afssaps/Partenariat/GIS 2 septembre 2011
36. Site: www.ECOPA.eu
- 37 FOX Michael « *The care for animal experimentation. An evolutionary and ethical perspective* » University of California Press. Los Angeles. 1985
38. DEMERS G., GRIFFIN G., DE VROEY G.HAYWOOD J.R. ZURLO J.et M.BEDARD. *Harmonization of animal care and use guidance*, Science, 312, 700-701, 5 mai 2006.
39. GRAAL. Site : www.graal-défenseanimale.org.
40. Site: www.iphc.cnrs.fr/Rehabilitations-html
41. BERNARD Claude. *Introduction à l'étude de la Médecine Expérimentale*. Baillères et fils. Paris. 1865. Flammarion. Paris. 1984.
42. Anonyme. Site: www.AXLR8.eu
43. TOX 21. *Computational Toxicology Research Program (Comptox)* www.epa.gov/NCCT
44. FELASA. Working Group on Pain and Distress. *Pain and distress in laboratory rodents and lagomorphs*, Lab. Animals (1994) 28, 97-112.
45. FELASA. Groupe de travail sur l'évaluation éthique des études sur les animaux. *Principes et pratique du contrôle éthique des études sur des animaux en Europe*. Lab. Animals, (2007), 41,143-160.

Ouvrages ou références consultés ou à consulter

ANIMALRESEARCH. The global resource for scientific evidence in Animal research.
Site: www.animalresearch.info

ANONYME. *Humane Endpoints in Animal Experiments for Biomedical Research*. Proceedings of the International Conference, 22–25 November 1998, Zeist, The Netherlands. London: Royal Society of Medicine Press,1999.

ANONYME. *Seventh update to the National Research Council's Guide for the Care and Use of Laboratory Animals* National Academies Press, 500 Fifth Street, NW, Washington, D.C.2010

CAMOS V. et Coll. *Homme et animal la question des frontières*. Editions Quae.Versailles.2009

CAAT. Center for Alternatives to Animal Experimentation. Johns Hopkins University. Site: www.caat.jhsph.edu Revue : ALTEX

EXPERT WORKING GROUP *on severity classification of scientific procedures performed on animals*. Final Report. Brussels, July 2009. www.ec.europa.eu/environment/chemicals/lab_animals/pdf/report_ewg.pdf.

FOX Michael A. *The care for animal experimentation. An evolutionary and ethical perspective*. University California Press. 1988

FRAME. Fund for the Replacement of Animals in Medical Experiments.

Site : www.frame.org.uk Revue : ATLA

ILAR (Institute for Laboratory Animal Research). *Recognition and Alleviation of Distress in Laboratory Animals*. Washington, DC: National Academy Press, 2008

IIVS. Institute for In Vitro Sciences. [Site: www.iivs.org](http://www.iivs.org)

MAURIN –BLANCHET Henri. A propos de l'éthique en expérimentation animale. *Sci. Tech. Anim. Lab*, 28, 71-89

NC3Rs . National Centre for the Replacement, Refinement and Reduction of animals in Research. e-newsletter www.nc3rs.org.uk

PILET Charles. *L'animal médecin. OGM et nouveaux médicaments, greffes, vache folle, grippe aviaire. Il y a toujours un animal dans votre santé*. Actes Sud Paris, 2005

REINHARDT V, REINHARDT A. *Variables, Refinement and Environmental Enrichment for Rodents and Rabbits Kept in Research Institutions*. Washington, DC: Animal Welfare Institute, 2006

TERNAUX J-P. et CLARAC F. *Le bestiaire cérébral*. CNRS éditions. Paris. 2012

ANNEXES

Annexe 1

Liste des lauréats du prix Nobel de Physiologie ou de Médecine, complétée des modèles animaux utilisés (1901-2011).

Source. Site internet www.animalresearch.info

- 1901 E.A. von Behring (All.) : Développement d'un sérum anti-diphtérique **Cobayes**
- 1902 R. Ross (G.-B.) Étude du cycle de l'agent du paludisme **Pigeons**
- 1904 I. P. Pavlov (Russ.) Physiologie de la digestion **Chiens**
- 1905 R. Koch (All.) Étude de la tuberculose, choléra, **Souris Vaches, moutons**
- 1906 C. Golgi (It.), S. Ramon y Cajal (Esp.) Étude sur le système nerveux central **Chiens, Chevaux**
- 1907 A. Laveran (Fr.) Travaux sur le paludisme **Oiseaux**
- 1908 P. Ehrlich (All.), E. Metchnikov (Russ.) Réactions immunitaires et fonctions des phagocytes **Oiseaux, Invertébrés marins, Cobayes**
- 1910 A. Kossel (All.) Étude de la chimie des cellules **Oiseaux**
- 1912 A. Carrel (Fr.) Suture et greffe de vaisseaux sanguins **Chiens** 1913 C. Richet (Fr.) Mécanismes de l'anaphylaxie **Chiens, Lapins**
- 1919 J. Bordet (Belg.) Mécanismes de l'immunité (le Complément) **Cobayes, Chevaux, Lapins**
- 1920 A. Krogh (Dan.) Contribution à l'étude de la régulation motrice des capillaires **Grenouilles**
- 1922 A.V. Hill (G.-B.), O. Meyerhof (All.) Consommation de l'oxygène et métabolisme de l'acide dans le muscle **Grenouilles**
- 1923 F. G. Banting (Can.), J. J. R. Macleod (Can.) Découverte de l'insuline et mécanisme du diabète **Chiens, Lapins, Poissons**
- 1924 W. Einthoven (P.-B.) L'électrocardiogramme **Chiens**
- 1928 C. Nicolle (Fr.) Pathogénèse du typhus **Singes, Cobayes, Rats, Porcs**
- 1929 C. Eijkman (P.-B.), F. G. Hopkins (G.-B.) Découverte des vitamines stimulant le croissance **Poulet**
- 1932 C. S. Sherrington (G.-B.), E. D. Adrian (G.-B.) Fonction des neurones **Chiens, Chats**
- 1933 T. H. Morgan (USA) Découverte dans le rôle des chromosomes dans l'hérédité **Drosophiles**
- 1934 G. H. Wipple (USA), W. P. Murphy (USA), G. R. Minot (USA) Thérapie hépatique de l'anémie **Chiens**
- 1935 H. Spemann (All.) Effet " organizer " dans le développement embryonnaire **Grenouilles, Tritons**
- 1936 H. H. Dale (G.-B.), O. Loewi (All.) Transmission chimique de l'impulsion nerveuse **Chats, Grenouilles, Oiseaux, Reptiles**
- 1938 C. Heymans (Belg.) Rôle des sinus et des mécanismes aortiques dans la régulation de la respiration **Chiens**
- 1939 G. Domagk (All.) Effets antibactériens du pronostil **Souris, Lapins**
- 1943 E.A. Doisy (USA), H. Dam (Dan.) Découverte de la fonction de la vitamine K **Rats, Chiens, Poulets, Souris**
- 1944 J. Erlanger (USA), H. S. Gasser (USA) Fonctions spécifiques des cellules nerveuses **Chats**
- 1945 A. Fleming (G.-B.), E. B. Chain (G.-B.), H. Florey (Austr.) Découverte de la pénicilline **Souris**

1947 C. F. Cori (USA), G.T. Cori (USA), B.A. Houssay (Arg.) Conversion catalytique du glycogène ; rôle de l'hypophyse dans le métabolisme du sucre. **Grenouilles, Chiens, Crapauds**

1949 A. C. de Abreu Freire Egas Moniz (Port.), W. R. S. Hess (Suisse) Organisation fonctionnelle du cerveau en tant que régulateur des organes internes **Chats**

1950 P. S. Hench (USA), E. C. Kendall (USA), T. Reinchstein (Suisse) Rôle antiarthrite des hormones surrénales **Vaches**

1951 M. Theiler (Un. sud-afr.) Vaccin contre la fièvre jaune **Singes, Souris**

1952 S.A. Waksman (USA) Découverte de la streptomycine, le premier antibiotique efficace contre la tuberculose **Cobayes**

1953 H.A. Krebs (G.-B.), F.A. Lipmann (USA) Caractérisation du cycle de l'acide citrique **Pigeons**

1954 J. F. Enders (USA), T. H. Weller (USA), F. C. Robbins (USA) Travaux sur la poliomyélite - Développement de vaccins **Singes, Souris**

1955 A. H. T. Theorell (Suède) Nature et mode d'action des enzymes oxydatives **Chevaux**

1957 D. Bovet (It.) Synthèse de molécules à action inhibitrice sur le système vasculaire et les muscles squelettiques **Chiens, Lapins**

1960 F. M. Burnet (Austr.), P. B. Medawar (G.-B.) Compréhension de la tolérance immunitaire acquise **Lapins**

1961 G. von Bekesy (USA) Mécanismes physiques de la stimulation de l'oreille interne **Cobayes**

1963 A. L. Hodgkin (G.-B.), A. F. Huxley (G.-B.), J. C. Eccles (Austr.) Mécanismes ioniques impliqués dans l'excitation et l'inhibition des portions périphériques et centrales des membranes des cellules nerveuses **Chats, Grenouilles, Crabs, Calamars**

1964 K. E. Bloch (USA), F. Lynen (RFA) Régulation du métabolisme du cholestérol et des acides gras **Rats**

1966 F. P. Rous (USA), C. B. Huggins (USA) Virus induisant des tumeurs et traitements hormonaux des cancers **Rats, Lapins, Poules**

1967 R. Granit (Suède), H. K. Hartline (USA), G. Wald (USA) Processus physiologiques et chimiques de la vision **Poulet, Lapin, Poisson, Crabe**

1968 R. Holley (USA), G. Khorana (USA), M. Nirenberg (USA) Interprétation du code génétique et son rôle dans la synthèse des protéines **Rats**

1970 J. Axelrod (USA), B. Katz (G.-B.), U. von Euler (Suède) Mécanismes de stockage et relargage des neurotransmetteurs **Chats, Rats**

1971 E. Sutherland (USA) Mécanisme d'action des hormones **Foie de mammifère**

1972 G. Edelman (USA), R. Porter (G.-B.) Structure chimique des anticorps **Cobayes, Lapins**

1973 K. Lorenz (Autr.), K. von Frisch (Autr.), N. Tinbergen (P.-B.) Organisation sociale et comportementale des animaux en groupe **Oiseaux, Poissons, Abeilles**

1974 A. Claude (Belg.), C. de Duve (Belg.), G. Palade (USA) Organisation structurale et fonctionnelle des cellules **Poulets, Cobayes, Rats**

1975 H. M. Temin (USA), R. Dulbecco (USA), D. Baltimore (USA) Interaction entre les virus oncogènes et le génome **Singes, Chevaux, Poulets, Souris**

1976 C. Gajdusek (USA), B. S. Blumberg (USA) Nouveaux mécanismes pour l'origine et la dissémination des maladies **Chimpanzé**

1977 R. Guillemin (USA), A. V. Schally (USA), R. Yalow (USA) Hormones hypothalamiques **Moutons, Cochons**

1979 A. M. Cormack (Afr. du S.), G. N. Hounsfield (G.-B.) Invention de la tomographie assistée par ordinateur (IRM) **Porcs**

1980 J. Dausset (Fr.), G. D. Snell (USA), B. Benacerraf (USA) Découverte et étude de la fonction du complexe majeur d'histocompatibilité **Souris, Cobayes**

1981 D. H. Hubel (USA), R. W. Sperry (USA), T. N. Wiesel (Suède) Traitement des informations visuelles par le cerveau **Chats, Singes**

1982 S. K. Bergström (Suède), B. I. Samuelsson (Suède), J. R. Vane (G.-B.) Découverte des prostaglandines **Rats, Lapins, Cobayes**

- 1984 N. Jerne (Dan.), G. Köhler (RFA), C. Milstein (G.-B.) Technique de formation des anticorps monoclonaux **Souris**
- 1985 M. S. Brown (USA), J. L. Goldstein (USA) Découverte de la régulation du métabolisme du cholestérol **Souris, Rats**
- 1986 S. Cohen (USA), R. Levi-Montalcini (It. et USA) Facteur de croissance des nerfs (NGF) et facteur de croissance épidermique (EGF) **Souris, Poulets, Serpents**
- 1987 Tonegawa Susumu (Jap.) Découverte des principes génétiques gouvernant la diversité des anticorps **Embryons de souris**
- 1988 J. Black (G.-B.), G. B. Elion (USA), G. H. Hitchings (USA) Découvertes des facteurs les plus importants pour la conception de médicaments **Souris, Rats, Lapins**
- 1989 M. Bishop (USA), H. Varmus (USA) Origine cellulaire des rétrovirus oncogènes **Poulets**
- 1990 J. E. Murray (USA), E. D. Thomas (USA) Techniques de transplantation d'organes **Chiens**
- 1991 E. Neher (All.), B. Sakmann (All.) Communication chimique entre les cellules **Grenouilles**
- 1995 E. B. Lewis (USA), C. Nüsslein-Volhard (All.), E. F. Wieschaus (Suisse) Contrôle génétique du développement embryonnaire précoce **Drosophile**
- 1996 P. Doherty (Austr.), R. Zinkernagel (Suisse) Reconnaissance par le système immunitaire des cellules infectées par un virus **Souris**
- 1997 S. Prusiner (USA) Découverte des prions **Souris, Hamsters**
- 1998 Robert F. Furchgott, Louis J. Ignarro, Ferid Murad Régulation de la pression sanguine par l'oxyde nitrique (NO) **Lapins**
- 1999 Günter Blobel (USA) Découverte de signaux intrinsèques des protéines permettant leur localisation et leur transport dans la cellule **Souris, Rats, Chiens**
- 2000 Arvid Carlsson (Suède), Paul Greengard (USA), Eric R. Kandel (USA) Découvertes sur la transduction du signal dans le système nerveux **Souris, Limaces**
- 2001 Leland H. Hartwell (USA), R. Timothy (Tim) Hunt (G.-B.), Sir Paul M. Nurse (G.-B.) Découverte de mécanismes régulateurs du cycle cellulaire **Grenouilles**
- 2002 Sydney Brenner (G.-B.), John Sulston (G.-B.), Robert Horvitz (USA) Régulation génétique du développement des organes et de la mort cellulaire **Nématodes**
- 2003 Paul C. Lauterbur (USA), Sir Peter Mansfield (G.-B.) Découverte concernant l'IRM **Grenouilles**
- 2004 Richard Axel, Linda Buck, Les récepteurs des odeurs et l'organisation du système olfactif **.Souris, Rats, Drosophiles**
- 2005 Barry Marshall, Robin Warren Découverte de *H. Pylori* et son rôle dans les ulcères gastriques **Gerbilles, Porcs**
- 2006 Andrew Fire, Craig Mello, RNA interference **Nématodes**
- 2007 Mario Capecchi, Martin Evans, Oliver Smithies. Ciblage des gènes et souris K.O. **Souris**
- 2008 Harald zur Hausen, Françoise Barré-Sinoussi, Luc Montagnier. Découverte des virus HPV et HIV **Souris, Primates**
- 2009 Elizabeth Blackburn, Carol Greider, Jack Szostak protection des chromosomes par les télomères et la télomérase **Souris Grenouille**
- 2010 Robert Edwards développement de la fécondation in vitro (FIV) **Souris, Lapine**
- 2011 Jules Hoffmann, Bruce Beutler, Ralph Steinmann, Immunité innée et adaptative. **Souris Drosophiles**

Annexe 2

**Extraits
du
sixième rapport sur les statistiques concernant le nombre d'animaux
utilisés à des fins expérimentales et à d'autres fins scientifiques
dans
les états membres de l'Union Européenne
SEC(2010) 1107.**

Extraits du Site : ec.europa.eu/environment/chemicals/lab_animals/reports

Le sixième rapport statistique contient des données fournies par la Roumanie et la Bulgarie qui ont rejoint l'UE en 2007. Il donne un aperçu général du nombre d'animaux utilisés dans les États membres à des fins expérimentales durant l'année 2008, à l'exception d'un État membre qui a fourni des données pour 2007.

Les 27 États membres ont transmis des données dans le format UE convenu. Le contrôle de qualité des données a révélé une qualité acceptable pour les données relatives à 2008.

Le nombre total d'animaux utilisés à des fins expérimentales et autres en 2008 dans les 27 États membres de l'UE dépasse tout juste 12 millions.

Espèces concernées

Comme dans les rapports précédents, les rongeurs ainsi que les lagomorphes représentent plus de 80 % du nombre total d'animaux utilisés dans l'UE. Les souris sont de loin l'espèce la plus utilisée, avec un pourcentage de 59 %, suivies par les rats avec 17 %.

La seconde catégorie d'animaux la plus utilisée est constituée, comme les années précédentes, par les animaux à sang froid, qui représentent un pourcentage de près de 10 %. Quand à la troisième catégorie d'animaux, il s'agit des oiseaux, avec légèrement plus de 6 % du nombre total d'animaux utilisés.

La catégorie des Artiodactyles et Périssodactyles comprend les chevaux, les ânes et les croisements (Périssodactyles), les porcins, les caprins, les ovins et les bovins (artiodactyles); elle ne représente que 1,4 % du nombre total d'animaux.

Il importe également de noter la forte diminution de l'utilisation des cébidés (42,2 %) et la moindre utilisation des cercopithécidés (9,8 %). Comme en 2002 et en 2005, aucun singe anthropoïde n'a été utilisé à des fins expérimentales ou à d'autres fins scientifiques en 2008.

Les États membres ont fourni les exemples suivants pour le type d'espèces couvertes par la catégorie «autres»: *autres rongeurs*: gerbilles, gerboises (*Jaculus jaculus*); chinchillas, castors, spermophiles, hamsters, hamsters migrateurs (*Cricetulus migratorius*) et différentes

espèces de souris; *autres carnivores*: des espèces sauvages utilisées pour des études zoologiques et écologiques(par exemple, renards, blaireaux, phoques, loutres, putois); *autres mammifères*: sangliers, chauve-souris et musaraignes, lamas, taupes, bisons d'Europe et cerfs; *autres oiseaux*: principalement cailles du Japon (*Coturnix japonica*) et colins de Virginie, espèces de volaille, diamants mandarins, canaris, perruches, perroquets et espèces aviaires d'élevage telles que les poulets.

Catégories d'espèces utilisées:	1996	1999	2002	2005	2010
Rongeurs et lapins en % :	81,3	86,9	78,0	77,5	82,2
Animaux à sang froid en %:	12,9	6,6	15,4	15	9,6
Oiseaux en % :		4,7	5	5,4	6,4
Artiodactyles et Périssodactyles :		1,2	1,2	1,1	1,4

Évolution quantitative de l'utilisation des animaux de laboratoire

D'importantes augmentations ont été constatées en 2008 pour les souris, les lapins, les porcins et la catégorie «autres oiseaux», avec des variations allant de 6,6 à 40 %. Le nombre de souris utilisées depuis 2005 a progressé de 691 842 individus, ce qui représente 10,7 % du nombre total de souris utilisées en 2005. Le nombre total de porcins, caprins, prosimiens et reptiles a augmenté entre 40 et 86,3 %.

En revanche, le nombre total de rats, de cobayes, d'autres rongeurs, de chiens, de bovins et d'autres mammifères ainsi que d'amphibiens et de poissons utilisés a diminué considérablement depuis le dernier rapport. Exprimées en pourcentage, ces diminutions varient entre plus de 40 % et 9 %.

Le plus grand pourcentage de variation concerne la diminution de l'utilisation des autres carnivores. Ces espèces ne sont toutefois pas utilisées en grand nombre (entre 8 711 et 2 853).

Le nombre total d'autres mammifères a également chuté (42,7 %.)

Les animaux ci-après, qui sont normalement moins utilisés, ont vu leurs pourcentages augmenter: furets (19,3 %), chevaux, ânes et croisements (12,5 %), caprins (78,9 %) et reptiles (65,5 %)

Utilisation des animaux de laboratoire

Plus de 60 % des animaux ont été utilisés dans la recherche et le développement pour la médecine humaine, la médecine vétérinaire, la dentisterie et dans les études de biologie fondamentale.

La production et le contrôle de qualité des produits et dispositifs employés en médecine humaine, médecine vétérinaire et dentisterie ont nécessité l'utilisation de 14,9 % du nombre total d'animaux.

Les essais toxicologiques et autres évaluations de la sécurité ont représenté 8,7% du nombre total d'animaux utilisés à des fins expérimentales (1.042.153) dont 50% servent à satisfaire simultanément les exigences de plusieurs nations.

En 2008, le nombre d'animaux utilisés pour l'étude de maladies à la fois chez l'homme et chez l'animal représentait environ 52 % du nombre total d'animaux utilisés à des fins expérimentales.

Sur le nombre total d'animaux utilisés pour toutes les études de maladies, plus de 90% l'ont été pour l'étude de maladies humaines.

En toxicologie, si l'on inclut également les essais de toxicité chronique et subchronique, le pourcentage d'animaux utilisés pour des tests de toxicité systémique à court et long termes représente 55% des animaux de laboratoire utilisés dans ce domaine.

13,7 % des animaux ont été utilisés pour des essais de cancérogénicité, de mutagénicité et de toxicité pour la reproduction.

Annexe 3

Utilisation des animaux de laboratoire.

Statistique 2008 du Royaume Uni.

Extraits du rapport de l'OPECS [7] pages 24 et 25

Au **Royaume-Uni**, le Home Office publie chaque année des statistiques.

Celles relatives à l'année 2008 donnent les informations suivantes :

Nombre (1) :

1 3,7 millions (+14% par rapport à 2007) ; cette augmentation est due essentiellement à l'augmentation du nombre de poissons et de souris utilisés ;

Souris, rats et autres rongeurs : 77%

Primates (2) : 24. 600, de plus en plus de l'Ancien Monde, – 3 350 primates

Type génétique :

Animaux génétiquement normaux : 1,9 million (+9%)

Animaux avec un lourd défaut génétique : 0,43 million (+35%)

Animaux génétiquement modifiés (3) : 1,3 million (+16%)

Objet (4):

Recherche fondamentale et appliquée : 3,2 millions de procédures ; reste : études de toxicité, de sécurité et autres études réglementaires (484 000, soit 13%) ; production de matériels biologiques : 320 000 procédures

Public/Privé :

Universités : environ 50% des procédures ; secteur commercial : environ 40%

Origine :

Seulement 25 409 animaux ont été importés, dont 12 073 de pays de l'Union européenne (dont 101 primates), 513 de pays signataires de la convention 123 du Conseil de l'Europe, et 12 823 (dont 1 850 primates) d'autres pays.

Systèmes étudiés (5) :

Système immunitaire : 461 038 ; Système nerveux : 441 229 ; Reproduction : 306 565 ;

Système digestif : 209 277 ; Système respiratoire : 103 297 ; Peau : 57 131... Systèmes

multiplés : 753 546

Anesthésie (6):

6. 2 377. 791 procédures n'ont pas eu recours à l'anesthésie (4 129 procédures impliquant des primates)

Les statistiques établies par le Home Office donnent la répartition des animaux utilisés en fonction des **domaines de recherche** : anatomie, physiologie, biochimie, psychologie, pathologie, immunologie, microbiologie, parasitologie, pharmacologie, R&D en pharmacie, thérapeutique, médecine clinique, chirurgie clinique, dentisterie, génétique, biologie biomoléculaire, recherche sur le cancer, nutrition, zoologie, botanique, science des animaux (7), écologie (8), bien-être des

(1) Nombre de procédures ayant commencé en 2008.

(2) Les primates ont été utilisés dans le cadre de travaux de recherche fondamentale (226, dont 93 ouistitis et tamarins et 133 macaques), la recherche appliquée en médecine humaine

(4 012, dont 3 737 macaques) et la protection de l'homme, des animaux et de l'environnement (360 macaques)

(3) Essentiellement des souris, mais aussi des rats, des porcs, des oiseaux, des amphibiens et des poissons.

(4) Recherche fondamentale en biologie : 1 170 662 (+17%) ; Recherche appliquée en médecine humaine et dentisterie 818 628 (+19%) ; Recherche appliquée en médecine vétérinaire 136 567 (- 7%) ; Protection de l'homme, des animaux et de l'environnement 83 584 (-44%) ; Enseignement 1 867 (+5%) ; Formation 777 (+13%) ; Enquêtes légales ; Diagnostic 53 114 (+11%) ; Élevage 1 390 881 (+19%).

S'agissant de l'élevage, les procédures visées concernent des souris (1 238 522), des rats, des porcs, des moutons, des oiseaux, des amphibiens et des poissons, mais aucun primate.

(5) Les statistiques répartissent les animaux en fonction des espèces.

(6) Les statistiques ventilent les espèces en fonction du type d'anesthésie pratiqué (anesthésie générale avec réveil ; anesthésie locale ; anesthésie générale sans réveil)

.....Tabac, alcool et « autres »(1) Les plus grands contingents d'animaux sont utilisés en immunologie (443 097), en recherche sur le cancer (387 673), en physiologie (438 324) et en R&D pharmaceutique (380,105), puis en anatomie (338 907) et en génétique (299 308).

Ces statistiques permettent également d'identifier les animaux utilisés pour la **production de matériels biologiques**. 3. 172 000 procédures ont été réalisées dans ce domaine, en incluant les procédures d'élevage (2. 852. 475). Sont notamment identifiés les nombres d'animaux respectivement utilisés pour la production d'agents infectieux (121. 403), de néoplasmes (12 244), d'anticorps monoclonaux(2) (4. 000) et polyclonaux (6. 095).

Une répartition des animaux utilisés en **toxicologie** est par ailleurs renseignée. 476. 802 animaux sont impliqués dans ces tests, essentiellement dans le domaine pharmaceutique, pour les tests de sécurité (192. 135), d'efficacité (41. 861) et de contrôle qualité (115. 556) notamment.

A noter que la recherche en toxicologie utilise seulement 3 429 animaux et le **développement de nouvelles méthodes**, 32 242 animaux. Le tableau mentionne, pour ordre, les cosmétiques (produits finis et ingrédients) en rappelant que l'utilisation des animaux dans ce domaine a été interdite en 1997.

Dans le domaine des tests toxicologiques, les statistiques précisent que sur 484 050 procédures relevant de ce domaine en 2008, 140 778 ont été réalisées en dehors de toute **obligation légale**(3).

Les statistiques répartissent par ailleurs les procédures relevant de ce domaine, selon le type de tests réalisés.

(1) La rubrique « autres » totalise 171 343 animaux ; pour le tabac, aucun animal n'a été utilisé (les procédures sur les animaux dans ce domaine ont été interdites par le Home Office en 1997)

(2) Aucun modèle d'ascite n'a été utilisé.

(3) Selon le rapport annuel d'inspection du Home Office, 15% des procédures réglementées sont afférentes à des tests de toxicologie ; 90% des 400 000 procédures réalisées chaque année répondent aux prescriptions nationales et internationales et 80% utilisent des rongeurs dans des études de toxicité non aiguë.

Annexe 4

Les 10 mesures proposées par le Pr H. Curien, ministre de la Recherche et de la Technologie (1992).

Extraites du discours de H. Curien lors de la conférence de presse du 28.01.1992

Les conditions du dialogue

Une politique active d'information sera développée

Création des bureaux de l'expérimentation animale par les organismes de recherche

Publication à intervalles réguliers de statistiques précises

L'environnement technique

Augmentation de la technicité des hommes

Rénovation des locaux

Le contrôle

Création d'un comité de réflexion et de contrôle de l'expérimentation animale inter-organismes

Accroissement des moyens de la Commission Nationale de l'Expérimentation Animale

L'animal

Organisation d'un colloque sur la contribution des modèles de pathologie spontanée à la recherche biologique et médicale

Encouragement au développement des méthodes alternatives

Concertations internationales pour harmoniser les réglementations dans le but de réduire le nombre d'animaux utilisés.

Commentaire : comme chacun peut le constater ces mesures constituaient le fondement d'une politique volontaire et responsable impulsée par le ministère de la Recherche et de la Technologie, au nom de la communauté scientifique.

Annexe 5

Activisme « pro-animal », juillet 2011.

Extrait du bulletin d'information émis par le GIRCOR le 1 août 2011 et relatif aux activités des associations protectionnistes en juillet 2011 [info.activime@gircor.net 1° août 2011]

....France

Plusieurs rassemblements se sont tenus à l'initiative de la CAV (Coalition anti-vivisection) devant des agences Air France-KLM en région parisienne et pendant le salon du Bourget. Le nombre de participants était faible, de l'ordre de la dizaine. Le rassemblement organisé pendant l'assemblée générale du groupe le 7 juillet a rassemblé une vingtaine de personnes. Deux autres rassemblements ont été organisés le 27 juillet par la même association devant les bâtiments d'Astra Zeneca et de Shering-Plough en région parisienne. Le nombre de participants était de l'ordre de la dizaine.

International

En Espagne 3 chiens Beagle ont été volés le 6 juin dans l'université vétérinaire de Madrid.

Au Royaume-Uni, un groupe a lancé une campagne de dénigrement contre les sociétés philanthropiques qui soutiennent la recherche qui a recours à l'expérimentation animale. De nombreuses réactions de protestation contre cette campagne ont été publiées par la presse. L'argument du support du public pour la recherche animale est cité dans ces réactions.

Les bâtiments d'un éleveur de Beagle ont été endommagés le 5 juillet et des menaces d'actions plus "sérieuses" ont été émises.

Aux États-unis, un juge a donné à l'UCLA (Université de Californie Los Angeles) le droit de ne pas répondre aux demandes d'information supplémentaire sur ses recherches, pour motifs que cela mettrait en danger les chercheurs et qu'il existe déjà suffisamment d'information disponible pour le public.

Le groupe NIO qui veut obliger par la menace les étudiants de l'université de Floride qui pratiquent l'expérimentation animale à l'abandonner, a distribué sur le campus des tracts promettant 100\$ à toute personne qui pratiquerait la dénonciation. Une plainte a été déposée pour intrusion illégale.

PETA (Pour une Éthique dans le Traitement des Animaux) a à nouveau attaqué l'université de Madison, cette fois-ci pour pratique de combats d'animaux à l'occasion d'une étude sur le comportement territorial chez la souris.

PCRM (Physicians Committee for Responsible Medicine) a porté plainte contre l'université du Mississippi pour utilisation de porcs vivants dans l'enseignement de la physiologie cardiovasculaire. Les plaintes de PCRM n'ont jamais été suivies de poursuites. Une plainte contre l'hôpital général du Massachusetts avait été suivie de l'arrêt de l'utilisation d'animaux vivants.

Antispécisme - véganisme

En Espagne, 12 personnes ont été arrêtées le 21 juin et accusées de crime contre l'environnement, désordre public et association criminelle dans le cadre de l'enquête sur la libération de 20000 visons en 2007. Quelques manifestations de soutien de faible ampleur se sont tenues dans plusieurs pays.

En Suède, les actions violentes « proanimales » s'étendent à plusieurs villes et visent maintenant les poissonneries et les MacDos, après avoir obtenu la fermeture de plusieurs commerces (fourrure, boucherie).

Un bâtiment d'élevage industriel a été incendié en Allemagne le 16 juillet. Les dégâts sont estimés à 500.000€. L'annonce des incendiaires précise que ces actions sont nécessaires et qu'il faut veiller à ne blesser personne

Annexe 6

Position des organes européens de sécurité face aux violences de certains activistes « antivivisectionnistes ».

Communiqué de presse émis à l'issue de la réunion conjointe des spécialistes d'Europol et Eurojust tenue début juillet 2011

[WWW.europol.europa.eu/content/press 3 septembre 2011]

18 July 2011 Europol and Eurojust hold international conference, The Hague, the Netherlands

The phenomenon of increased violence committed by some extremists in the name of animal rights is a growing cause for concern. In a major conference organised by Europol and Eurojust 58 experts from law enforcement and prosecution authorities, plus representatives from 35 private sector organisations, met last week at Europol's new headquarters in The Hague to discuss the issues behind this new trend.

While the defense of the rights of animals and their welfare is legitimate and fully supported by European Union institutions, the increase in violence by extremists remains a concern for all of the conference participants. An example is the increased use of Improvised Explosive Devices (IEDs) and Improvised Incendiary Devices (IIDs).

Violent animal rights extremists do not hesitate in sending threatening emails or making warning phone calls to their targets, often intimidating their family and committing physical assaults on their property, in so-called home visits. This has resulted in arson attacks on cars and property. Single-issue extremist groups are also actively targeting the fur and pharmaceutical industries. This has included the mass release of animals and the destruction of feeding and water installations for the animals. Another tendency is that single-issue extremist groups (including anarchist groups) are supporting each others' causes more and more.

"We are concerned by the increasing levels of violence used by animal rights extremists and their tendency to collaborate with other extremists in society. Europol is committed to helping law enforcement authorities in the EU and partners in industry to prevent the further spread of this activity. The conference at Europol's new headquarters was an important milestone in these efforts." says Rob Wainwright, Director of Europol.

Together with a tactical meeting held at Eurojust in April 2011 on the same topic, the conference clearly identified the need for a wider exchange of information to provide the Member States' authorities with a clear picture of ongoing criminal activities. There is a tendency to underestimate the importance of the phenomenon and of the links between criminal actions committed in different countries. Forensic analysis clearly demonstrates that some attacks committed in the EU have used the same modus operandi and that the devices used are similarly manufactured.

From the context of the conference, it became obvious that the violent criminal activities are often orchestrated at an international level. To this end, a need for increased law enforcement coordination at an international level was identified, as well as more awareness on a local police and judicial level.

The conference recommendations include:

- Encouraging Member States' authorities to prevent and fight all forms of violent criminal extremism and developing, at an EU level, a renewed dialogue on animal protection and animal welfare to allow all concerned parties to express their needs and concerns in a democratic way
- Exploring the possibility of sharing technical data with the relevant parts of the corporate security community and their branch organisations, respecting the data protection regulations within Europol and Eurojust's existing legal frameworks
- Developing a common strategy with the corporate security community to further cooperation between EU institutions and the relevant parts of the private sector.

The above recommendations were supported by a conclusion that called for increased information exchange with Europol and Eurojust on attacks, prosecutions and convictions in animal rights extremism cases. This will lead to the identification of good practice, increased sharing of experience and ultimately a more efficient and coordinated approach in tackling the phenomenon.

Europol and Eurojust are currently supporting ongoing enquiries in a number of Member States that are linked to crimes committed in the name of animal welfare.

Annexe 7

Positions de minorités scientifiques : Lettre de l'association « Safer Medicine » publiée dans « The Lancet ».

The Lancet, Volume 377, Issue 9781, Page 1915, 4 June 2011

Open letter to UK Prime Minister David Cameron and Health Secretary Andrew Lansley on safety of medicines.

"Kathy Archibald (a), Robert Coleman (b), Christopher Foster (c), on behalf of 19 other signatories"

We are writing to you as a group of clinicians and scientists to express our concern about the escalating problems of drug failures and adverse drug reactions. The UK pharmaceutical industry is in crisis, as the departure of Pfizer from the Sandwich site makes plain. Likewise, health care is in a web of crises, many of which are intimately linked to the pharmaceutical industry's major problems.

Adverse drug reactions have reached epidemic proportions and are increasing at twice the rate of prescriptions.¹ The European Commission estimated in 2008 that adverse reactions kill 197 000 EU citizens annually, at a cost of €79 billion.² The cost of new medicines is rising unsustainably, creating an ever-increasing burden on the National Health Service (NHS). Meanwhile, many increasingly prevalent diseases, such as Alzheimer's disease, diabetes, many cancers, and stroke, remain without adequate treatments.

The major reason for the rising cost of new drugs is the fact that more than 90% of them fail in clinical trials.³ Companies need to recoup the cost of development not only for the drug that succeeds, but for the nine others that fall by the wayside.

It is increasingly clear that an important factor contributing to these problems is the over-reliance of the pharmaceutical industry on the use of animals to predict drug behaviour in man. The stark differences, not only in the diseases of different animal species, but also the ways that they respond to drugs, are now well known. Many studies have shown that animal tests frequently fail to translate to the clinic, with estimates of their ability to predict effects on people as low as 37—50%, or no better than the toss of a coin.⁴

Our reliance on animals to establish safety results in the exposure of clinical volunteers and patients to many treatments that are at best ineffective and at worst dangerous. Take for example the notorious Northwick Park clinical trial drug, TGN1412, that left six young men in intensive care in 2006. This drug was demonstrably safe in monkeys at doses 500 times higher than those that nearly proved fatal to the volunteers.⁵ Soon after the disastrous trial, an assay that used human cells was developed to predict such an immune system over-reaction.⁵ Had this assay been in use before human beings were exposed, the trial would never have taken place. Surely the time has come for there to be a rigorous assessment of the ability of such human-based tests to improve on the deeply flawed, animal-based approaches in current use?

We call on the UK Government to initiate a comparison of a set of human-biology-based tests with those currently used, as proposed in the Safety of Medicines Bill 2010—11,⁶ to see which are more

effective for predicting the safety of medicines for patients. Several new technologies promise increased clinical predictability as well as substantial improvements in efficiency and cost. The Bill does not propose any replacement of animal tests, merely their assessment of fitness for purpose. 148 Members of Parliament have already signed a motion⁷ in support of this proposal.

Some of us recently made representations to the UK Department of Health, and were told that the Government believes that human-biology-based systems have not been established as being more predictive than are animal studies for developing safer medicines. We agree, but that is because no rigorous examination of such systems has been undertaken. The very purpose of the proposed comparison is to initiate such an examination, which is urgently necessary for the sake of the NHS, the pharmaceutical industry, and, most importantly, patients.

We urge you to act now to ensure that the best technologies currently available are used to establish the safety of medicines for patients.”

References

¹ Lakhani N. Special report: prescription medicines. *The Independent* Oct 21, 2007.

² Anon. Strengthening pharmacovigilance to reduce adverse effects of medicines. Brussels: European Commission, 2008. http://ec.europa.eu/health/files/pharmacos/pharmpack_12_2008/memo_pharmacovigilance_december_2008_en.pdf. (accessed May 10, 2011).

³ US Food and Drug Administration. Innovation or stagnation: challenge and opportunity on the critical path to new medical products. <http://www.fda.gov/ScienceResearch/SpecialTopics/CriticalPathInitiative/CriticalPathOpportunitiesReports/ucm077262.htm>. (accessed May 10, 2011).

⁴ Perel P, Roberts I, Sena E, et al. Comparison of treatment effects between animal experiments and clinical trials: systematic review. *BMJ* 2006; **334**: 197-200. [CrossRef](#) | [PubMed](#)

⁵ Stebbings R, Findlay L, Edwards C, et al. “Cytokine storm” in the phase I trial of monoclonal antibody TGN1412: better understanding the causes to improve preclinical testing of immunotherapeutics. *J Immunol* 2007; **179**: 3325-3331. [PubMed](#)

⁶ House of Commons. Safety of Medicines Bill. London: Stationery Office, 2010. <http://www.publications.parliament.uk/pa/cm201011/cmbills/059/2011059.pdf>. (accessed May 10, 2011).

⁷ House of Commons. Early day motion 475: safety of medicines. <http://www.parliament.uk/edm/2010-11/475>. (accessed May 12, 2011).

(a) Safer Medicines Trust, PO Box 62720, London SW2 9FQ, UK

(b) 27 Wodehouse Terrace, Falmouth, UK

(c) Liverpool University, Division of Pathology, Liverpool, UK

Annexe 8

Présentation de l'Association française des Sciences et Techniques de l'Animal de Laboratoire et de ses activités.

Extrait du site de l'Association Française des Sciences et Techniques de l'Animal de laboratoire (juin 2012)

PRESENTATION GENERALE DE L'ASSOCIATION

Notre association a été fondée en 1972 et représente les différents professionnels de la Recherche Biomédicale qui contribuent aux progrès de la médecine et à l'amélioration de la santé de l'Homme et des animaux, grâce à l'étude de modèles animaux.

Notre association compte actuellement plus de 500 adhérents. L'AFSTAL s'adresse aux techniciens, zootechniciens, étudiants, chercheurs, ingénieurs, vétérinaires et autres personnels scientifiques, techniques, ou du domaine règlementaire. Elle aide ses adhérents à améliorer leurs pratiques quotidiennes pour s'assurer que leurs travaux soient mis en œuvre de façon à produire des résultats du meilleur niveau de qualité, tout en garantissant le respect et le bien-être des animaux.

L'AFSTAL a pour mission :

- de promouvoir les échanges et la diffusion des connaissances scientifiques et techniques actuelles liées à l'animal de laboratoire ;
- de favoriser la formation des professionnels de l'animal de laboratoire aux Bonnes Pratiques Animales, c'est-à-dire aux principes et aux méthodes qui respectent en particulier le concept des 3R décrit par Russell et Burch en 1959: rationaliser l'utilisation de l'animal de laboratoire en encourageant son remplacement (Replacement), l'affinement des techniques (Refinement), et la diminution du nombre d'animaux utilisés (Reduction).

PROPOSITIONS D'ACTIVITES 2012

38e COLLOQUE ANNUEL

Le 38ème colloque de l'AFSTAL aura lieu à Marseille du 6 au 8 juin. Le programme des conférences porte sur **«Qualité et Environnement en Animalerie »**.

Après un tour d'horizon des possibilités offertes par les différents systèmes d'accréditation en matière de qualité, les conférences porteront sur des illustrations concrètes ou pratiques de l'apport en recherche animale. Nous traiterons également du lien entre la qualité, l'éthique et la réglementation. Les dernières conférences du colloque seront l'occasion d'une mise à jour, destinée à tous, sur l'actualité règlementaire.

Comme lors des 3 dernières éditions, nous vous offrons la possibilité de vous exprimer. Nous tenons beaucoup aux plages laissées libres pour les communications courtes. Compte tenu de la thématique de ce colloque, elles seront une occasion unique d'échanger sur des retours d'expérience que nous vous proposons de présenter. Vous avez réussi à mettre en place un système qualité ? Vous avez identifié des points critiques particuliers ? Vous avez développé une méthode innovante pour valider des paramètres, qualifier un équipement ? Venez communiquer à Marseille.

Cette année, malgré la crise que nous connaissons, les exposants ont répondu très nombreux à ce rendez-vous. L'exposition commerciale sera exceptionnellement vaste et variée. Vous avez besoin de rencontrer vos fournisseurs habituels, découvrir de nouvelles solutions, préparer un appel d'offre ? Tous vous attendront à Marseille pour vous aider, et vous renseigner.

Le programme des conférences, ainsi que tous les renseignements pratiques et logistiques vous attendent sur le site <http://www.colloque-afstal.com/2012/>.

Pour toute question ou renseignement, n'hésitez pas à nous contacter à l'adresse afstal@free.fr

2nd CENTRAL AND EASTERN LABORATORY ANIMAL SCIENCE (CEELA-2012) TRIANNUAL CONFERENCE

L'association hongroise, Hungarian Laboratory Animal Science Association (HLASA), organise la 2nd Central and Eastern Laboratory Animal Science (CEELA-2012) Triannual Conference le **02/06/2012 à Budapest** (Hongrie), pour toute information complémentaire rendez vous sur le site du congrès.

47 EME CONGRES DE L'EUROPEAN SOCIETY FOR SURGICAL RESEARCH (ESSR)

Le 47ème congrès annuel de l'European Society for Surgical Research (ESSR) aura lieu du 6 au 9 juin 2012 à Lille. Ce congrès européen accueille environ 300 jeunes chercheurs et chirurgiens du monde entier (hormis l'Europe : le Japon, les USA, la Turquie,...) impliqués dans la recherche chirurgicale ; il se réunit annuellement depuis près d'un demi-siècle.

Une journée « workshop » se tiendra le mercredi 6 juin, sur le Rat et le Porc, autour des thèmes suivants :

- * Chirurgie métabolique et pose d'anneau gastrique (Porc)
- * Perfusion d'organes ex vivo et transplantation (Porc)
- * Néphrectomie par voie transvaginale (Porc)
- * Anastomoses par couplage (Rat)

Toutes les informations sont sur le site www.essr2012.com

JOURNEES ASSOCIATION DES TECHNICIENS EN TOXICOLOGIE EXPERIMENTALE (ATTE)

La prochaine journée organisée par l'ATTE se déroulera les 28 et 29/09/12 à l'institut de recherche Pierre Fabre à Castres. Pour tout renseignement complémentaire rendez vous sur ce lien.

Le but de l'ATTE est de permettre des échanges sur les techniques et les expertises en expérimentation animale.

L'ATTE organise des rencontres annuelles se déroulant sur 2 demi-journées au cours desquelles des Présentations sont faites en français par des techniciens.

Plusieurs thèmes sont abordés lors de ces journées :

- Techniques utilisées en Toxicologie générale, pharmacocinétique, pharmacologie et Toxicologie de la reproduction
- Hébergement, comportement, bien-être animal
- Éthique, sécurité
- Innovations technologiques
- Bonnes pratiques de laboratoire et législation

Les Rencontres sont organisées fin Septembre, généralement dans un des centres de Recherche adhérents à l'association.

NEW : JOURNEE DE LA FONDATION DROIT ANIMAL, ETHIQUE ET SCIENCE (LFDA)

La Fondation Droit Animal, Éthique et Sciences (LFDA), en partenariat avec le Groupe de Recherche International en Droit Animal (GRIDA) de l'Université du Québec à Montréal (UQAM) organise un colloque international intitulé « La souffrance animale, de la science au droit » à Paris, à l'Organisation mondiale de la santé animale - OIE (12 rue de Prony, 75017 Paris), les 18 et 19 octobre 2012, de 9 h à 17 h 30.

Pour s'inscrire gratuitement, depuis la page Internet télécharger le "bulletin d'inscription", à retourner dûment complété le plus rapidement possible, dans la mesure où le nombre de places disponibles est limité à 200. Le programme détaillé du colloque est également téléchargeable depuis cette page Internet.

Un avis de confirmation d'inscription sera expédié. Cet avis ainsi qu'une pièce d'identité et une carte professionnelle seront exigés à l'entrée de la salle du colloque.

L'évolution du droit pour la protection des animaux s'appuie aujourd'hui sur une éthique fondée sur le respect de la sensibilité spécifique de l'animal apte à ressentir la douleur ou à éprouver des émotions, l'absence d'émotions négatives, telles la souffrance, l'angoisse ou la peur, étant une composante majeure du bien-être. Cette éthique se base elle-même sur le développement récent des connaissances impulsées par la neurobiologie et l'éthologie. Quelles sont aujourd'hui les présomptions et les certitudes de la science sur la sensibilité animale dans chaque groupe zoologique? Comment ces connaissances sont-elles prises en compte par les droits nationaux de protection des animaux, en Amérique du Nord, en Amérique du Sud, en Australie et en Europe?

Pour débattre de ces questions avec un large public : 26 experts spécialistes de la souffrance animale, de l'éthique animale et du droit animal (14 biologistes éthologues, neurobiologistes et vétérinaires, 2 philosophes et 10 juristes) venus d'Australie, de Belgique, du Canada, des Etats-Unis d'Amérique, d'Espagne, de France, de Grande-Bretagne et de Suisse.

Le programme de la journée est disponible.

NEW : 4ème JOURNEE DU RESEAU DES ANIMALERIES MONTPELLIERAINES

La quatrième journée du RAM se tiendra sur le campus de supagro à Montpellier le jeudi 25 octobre 2012, le thème sera "l'expérimentation animale mise en lumière " :

- * l'optogénétique
- * la fluorescence
- * la nouvelle directive : ce qui va changer
- * les barrières en animalerie

Inscription gratuite mais obligatoire (les modalités d'inscription vous seront communiquées ultérieurement).

12ème CONGRES FELASA

Le 12ème congrès de la FELASA se tiendra du 10 au 13 juin 2013 à Barcelone(Espagne) et s'intitulera « **Moving Research from animals to patients: Laboratory Animal Science to the service of humans, animals and the environment** ». Pour toute information complémentaire rendez vous sur le site du congrès

Annexe 9

Formation des techniciens en expérimentation animale

Lycée d'Enseignement Général et Technologique Agricole

BP 106-AREINES-41106 VENDOME cedex

Au travers d'une large place faite aux pratiques professionnelles, la formation permet :

en Seconde Professionnelle, la découverte du secteur de l'expérimentation animale, de son contexte et ses enjeux ; la connaissance du fonctionnement d'une unité d'expérimentation animale, la compréhension et la mise en œuvre d'opérations techniques.

en 1ère et Terminale Bac Pro, une vue d'ensemble des potentialités des espèces animales utilisées en recherche biomédicale, la mise en œuvre d'une étude expérimentale, l'organisation des opérations techniques liées à la maintenance et à l'élevage des animaux, l'entretien de la qualité sanitaire de l'unité animale.

Seconde Professionnelle *TEA (Technicien en Expérimentation Animale)*

Acquisition de connaissances générales au travers de modules de base dans les disciplines générales essentielles pour une poursuite d'études en Brevet de Technicien Supérieur Agricole. (Français, langue vivante, biologie, EPS, Histoire - géographie - philosophie, mathématiques, connaissances et pratiques sociales).

Acquisition de connaissances zootechniques professionnelles théoriques et pratiques dans les domaines de la santé animale. (connaissance de la matière et du vivant, fonctionnement de l'entreprise de production, étude de filière, sciences et techniques communes aux productions animales, conduites d'élevage des petits et gros animaux de laboratoire, prophylaxie dans les unités animales, utilisation des "modèles-animaux" de laboratoire.

Enseignement général

	Horaire hebdomadaire	Horaire global
	(à titre indicatif)	
Biologie - écologie	0,5h	15h
Éducation socioculturelle	1h	30h
Histoire - géographie	1h	30h
Économie	1h	30h
Éducation physique et sportive	2h	60h
Français	2h	60h

Informatique	1h	30h
Langue vivante (Anglais)	2h	60h
Mathématiques	2h	60h
Physique Chimie	1h	30h
Enseignement professionnel		
Zootecnie	7,5h	225h
Biologie	1,5h	45h
Physique - Chimie	1,5h	45h
Activités pluridisciplinaires	1h	30h
Enseignement à l'initiative de l'établissement	1h	30h
Éducation à la santé et au développement durable	30h (1 semaine)	
Mise à niveau	1h	30h

Baccalauréat Professionnel TEA (Technicien en Expérimentation Animal)

Acquisition de compétences professionnelles dans les domaines de la santé animale, du fonctionnement de l'entreprise de production (étude de filière, sciences et techniques communes aux productions animales, conduites d'élevage des petits et gros animaux de laboratoire, prophylaxie dans les unités animales, utilisation des "modèles-animaux" de laboratoire). **14 à 16 semaines de stage dans le milieu professionnel** qui peuvent se réaliser en France ou en Europe (programme Comenius) **Un module d'adaptation professionnelle**

Acquisition de connaissances générales au travers de modules de base dans les disciplines générales essentielles pour une poursuite d'études en Brevet de Technicien Supérieur Agricole. (Français, langue vivante, biologie, EPS, Histoire - géographie - philosophie, mathématiques, connaissances et pratiques sociales).

Modules d'enseignement général	Volume global sur les 2 années de formation
Langue française, compréhension du monde	308h
Langue et culture étrangères	98h
Éducation physique et sportive	112h
Culture scientifique et technologique	280h

Modules d'enseignement professionnel

Caractéristiques du fonctionnement et de l'organisation du secteur de l'expérimentation animale	56h
Fonctionnement et gestion de l'unité animale	56h
Connaissances scientifiques et technologiques liées à l'animal et à son environnement	112h
Zootecnie générale et comparée	56h
Mise en œuvre d'une étude expérimentale	154h
Maintenance des animaux et conduite d'élevage dans l'unité animale	112h
Prophylaxie dans l'unité animale et fonctionnalité	56h
Module d'adaptation professionnelle (MAP)	56h
Activités pluridisciplinaires	112h

Annexe 10

Mouvements d'opinion concernant les vaccinations.

Avis de l'Académie Nationale de Médecine adopté le 12 février 2008

Sur la vaccination contre l'hépatite B en France

*Pierre Bégué, Marc Girard, Jacques Frottier, François Denis et la sous-commission « Vaccinations ».
Au nom de la Commission VII (Maladies infectieuses et parasitaires)*

Une campagne médiatique sur les effets adverses graves de la vaccination contre l'hépatite B se développe à nouveau en France à la suite de la mise en examen des laboratoires producteurs du vaccin. Bien qu'elle concerne leur action publicitaire en 1994, l'accent est mis, par les médias, sur la responsabilité du vaccin dans la survenue de cas de sclérose en plaques (SEP) .

L'Académie de médecine s'inquiète de ces allégations, qui réveillent une fois encore l'inquiétude et les hésitations des médecins vaccinateurs et des personnes à vacciner. Elle rappelle ses prises de positions antérieures, en date du 4 février 1997, du 30 juin 1998 et du 3 décembre 2002. En 2002, déjà, l'évaluation du rapport bénéfices/risques du vaccin faite par l'InVs dans une cohorte d'adolescents et d'adultes à risques montrait que le nombre de porteurs chroniques du virus, de cirrhoses et de cancers du foie évité par la vaccination était très supérieur à celui des éventuels effets secondaires imputés [1].

Depuis cette époque, 8 études nationales et internationales ont démontré l'absence de relation statistiquement significative entre la SEP et la vaccination contre l'hépatite B. Une étude publiée en 2004 par Hernan [2] a soulevé des questions mais sa méthodologie a été réfutée par les experts de l'OMS [3,4]. Deux réunions de consensus nationales en 2003 et 2004 ont confirmé les recommandations de vaccination prioritaire des nourrissons et de rattrapage des enfants et adolescents non vaccinés[5,6]. Tout récemment ont été publiées deux études des services de neuro-pédiatrie français (KIDSEP) chez l'enfant et l'adolescent (2007) : la première démontre l'absence d'influence du vaccin de l'hépatite B sur le risque de passage à la SEP après le premier épisode de maladie démyélinisante ; la deuxième montre qu'il n'y a pas d'augmentation du risque de première poussée de SEP après une vaccination contre l'hépatite B dans les 3 années précédentes [7,8]. L'ensemble de ces résultats a conduit le Haut conseil de santé publique à rappeler les recommandations de la vaccination le 14 décembre 2007[9].

L'Académie de médecine constate que la couverture vaccinale du nourrisson et de l'enfant demeure très faible en France (25%), contrairement aux autres pays européens et du continent nord-américain. En 2003-2004 on observait 600 nouveaux cas d'hépatite B annuels, dont la moitié aurait pu être évitée si les recommandations de vaccination avaient été suivies, et l'on estimait à 280000 le nombre de porteurs de l'Ag HbS en France [10]. Les craintes actuelles à l'égard de la vaccination, injustifiées, vont encore aggraver cette situation. L'Académie nationale de médecine affirme à nouveau l'importance de la vaccination contre l'hépatite B, souligne la cohérence en terme d'efficacité et de sécurité des recommandations de vaccination contre l'hépatite B des nourrissons avec rattrapage jusqu'à 13 ans, rappelle les données scientifiques montrant son absence

d'imputabilité dans la SEP chez les enfants et les adolescents et insiste sur le risque qu'il y a, pour la France, à laisser persister une protection aussi faible contre cette redoutable maladie.

Références

- 1 - Lévy-Bruhl D, Desenclos JC, Rebière I, Drücker J. Central demyelinating disorders and hepatitis B vaccination: a risk benefit approach for the pre-adolescent vaccination in France. *Vaccine* 2002; 20: 2065-71.
- 2 - Hernán M.A, Jick S.S, M.J. Olek , Jick H. Recombinant hepatitis B vaccine and the risk of multiple sclerosis . A prospective study. *Neurology* 2004; 63: 838-42.
- 3 - Naismith R.T, Cross A.H. Does the hepatitis B vaccine cause multiple sclerosis? *Neurology* 2004;63:772-773
- 4 - Comité consultatif mondial de l'organisation mondiale de la santé sur la sécurité des vaccins: réponse à l'article de Hernan et al. intitulé "vaccin hépatite B recombinant et risque de sclérose en plaques" et publié le 14 septembre 2004 dans la revue *Neurology*. OMS. Hépatite B. GACVS. www.who.int
- 5 - Réunion de consensus: vaccination contre le virus de l'Hépatite B. 11 et 12 septembre 2003. Paris. www.inserm.fr
- 6 - AFSSAPS, ANAES, INSERM. Audition publique. Vaccination contre le virus de l'Hépatite B et sclérose en plaques. Etat des lieux. Paris 9 novembre 2004. Rapport. www.inserm.fr
- 7 - Mikaeloff Y, Caridade G, Assi S, Tardieu M., Suissa S, on behalf of the KIDSEP study group of the French Neuropaediatric Society. Hepatitis B vaccine and risk of relapse after a first childhood episode of CNS inflammatory demyelination . *Brain* 2007 ;130 :1105-10.
- 8 - Mikaeloff Y, Caridade G, Rossier M, Suissa S, Tardieu M. Hepatitis B Vaccination and the Risk of Childhood-Onset Multiple Sclerosis. *Arch Pediatr Adolesc Med.* 2007;161:1176-82.
- 9 - Haut Conseil de la santé publique Avis relatif aux recommandations de vaccination contre l'hépatite B en France. 14 décembre 2007. *Avis du HCSP.* www.hcsp.fr
- 10 - Antona D, Delarocque-Astagneau E, Lévy-Bruh D. Déclaration obligatoire des hépatites B aiguës : résultats de la première année de surveillance, France, 1er mars 2003-1er mars 2004. *Bull Epidemiol Hebd.* 2005; 31: 157-160.

Annexe 11

Avis de l'Académie Vétérinaire de France.

Sur la proposition de loi relative "au recours à la vivisection et à l'utilisation des animaux domestiques en laboratoires" déposée par M. le Député Flory

Adopté par l'Académie Vétérinaire de France le 10 mai 2007

L'Académie Vétérinaire de France a pris connaissance de la proposition de loi relative « *au recours à la vivisection et à l'utilisation des animaux domestiques en laboratoires* », déposée le 15 février 2007, par Monsieur le Député Jean-Claude Flory. Elle considère que l'exposé des motifs présentés dans ce projet de loi est formulé en termes passésistes et qu'il ignore délibérément et de manière surprenante la réalité du cadre actuel de la démarche expérimentale dans les sciences du Vivant.

L'Académie Vétérinaire de France rappelle :

- ✓ que les progrès de la connaissance dans les Sciences biologiques et médicales sont dus, pour l'essentiel, à la démarche expérimentale ;
- ✓ que tous les organismes de recherche, français et internationaux, ont recours à l'animal dans leurs approches des mécanismes biologiques fondamentaux, notamment de ceux qui sont relatifs à une meilleure connaissance de la pathogénèse. Cette approche est particulièrement indispensable lorsqu'il s'agit de la mise au point de nouveaux moyens de prévention ou de traitement des maladies humaines ou animales ;
- ✓ que le recours à l'expérimentation animale est une obligation légale pour la constitution des dossiers relatifs à la mise sur le marché de nouveaux médicaments ;
- ✓ que les méthodes susceptibles de se substituer à l'utilisation d'animaux dans la démarche expérimentale sont très souvent conçues et développées par ces mêmes organismes de recherche, compte tenu de leurs intérêts éthique, scientifique et économique ;
- ✓ que des difficultés théoriques et pratiques limitent encore sérieusement la généralisation de méthodes faisant appel à des modèles informatiques (dits *in silico*) ou à des cultures de cellules ou de tissus (modèles dits *in vitro*) ;
- ✓ que le recours à l'expérimentation animale est une obligation légale pour la constitution des dossiers relatifs à la mise sur le marché de nouveaux médicaments à usage humain ou vétérinaire ;
- ✓ que l'expérimentation sur animaux vivants, incluant les animaux domestiques, fait l'objet d'une réglementation précise, appliquée dans la plupart des pays de l'Union Européenne (Directive Européenne 86/609, transcrite en droit français par le Décret 87-848 du 19 octobre 1987 et complété par le Décret n°2001-464 du 29 mai 2001). Cette réglementation se matérialise par des autorisations données aux personnes qualifiées, par l'agrément des établissements destinés à l'expérimentation animale et par le strict contrôle de l'origine des animaux utilisés. A cette réglementation s'ajoute, depuis 2001 l'obligation faite aux chercheurs de justifier l'utilisation d'animaux vivants dans leurs

programmes expérimentaux. Les articles 521-1; 511-1 et 511-27 du code pénal sont applicables en cas de non respect de ces textes ;

- ✓ qu'au-delà de la stricte application de la réglementation, un accompagnement éthique de la démarche expérimentale a été spontanément et progressivement mis en place dans notre pays, à partir de 1992, afin de contribuer au respect de la vie et du bien-être animal.

L'Académie Vétérinaire de France attire l'attention sur les conséquences que pourrait avoir l'interdiction de l'expérimentation sur animaux vivants, objet de la proposition de loi de Monsieur le Député Jean-Claude Flory.

Cette interdiction :

- ✓ entraînerait la disparition, dans notre pays, de l'essentiel de la recherche en Biologie et en Médecine avec son cortège de conséquences graves et peut-être même irréversibles aux niveaux médical, sanitaire et social, en raison notamment de l'interruption de l'innovation dans les domaines du médicament et des vaccins ;
- ✓ induirait, en relation avec la disparition de la recherche, une régression certaine du niveau de l'enseignement supérieur dans les domaines biomédicaux ;
- ✓ exclurait la réalisation de tests prévus par la réglementation des contrôles sanitaires et toxicologiques ; ceci entraînerait une élévation importante des risques sanitaires, notamment dans les domaines alimentaire ou environnemental ;
- ✓ serait immanquablement à l'origine de la délocalisation de la recherche pharmaceutique et du contrôle de production des médicaments et vaccins dans des pays ayant une législation plus permissive, avec de graves conséquences économiques et sociales.

En conséquence, **l'Académie Vétérinaire de France recommande** :

- ✓ le retrait de la proposition de loi de Monsieur le Député Jean-Claude Flory ;
- ✓ le soutien des recherches conduisant à la mise au point de méthodes fiables dans leur capacité à se substituer, autant que faire se peut, à l'expérimentation sur animaux vivants ;
- ✓ le soutien au développement de toutes les méthodes susceptibles d'améliorer la bientraitance des animaux utilisés et de réduire le nombre de ces derniers, en particulier, en favorisant la création de banques de données spécialisées, afin de limiter les risques de redondance pouvant apparaître entre divers projets d'expérimentation.

Annexe 12

Modèle spontané de myodystrophie : le « Golden Retriever » (2011).

Longitudinal ambulatory measurements of gait abnormality in dystrophin deficient dogs

Inès Barthélémy,¹ Eric Barrey,^{2,3} Pablo Aguilar,¹ Ane Uriarte,¹ Matthias Le Chevoir,¹ Jean-Laurent Thibaud,¹ Thomas Voit,⁴ Stéphane Blot,¹ and Jean-Yves Hogrel⁴
BMC Musculoskelet Disord. 2011; 12: 75.

Abstract:

Background: This study aimed to measure the gait abnormalities in GRMD (Golden retriever muscular dystrophy) dogs during growth and disease progression using an ambulatory gait analyzer (3D-accelerometers) as a possible tool to assess the effects of a therapeutic intervention.

Methods: Six healthy and twelve GRMD dogs were evaluated twice monthly, from the age of two to nine months. The evolution of each gait variable previously shown to be modified in control and dystrophin-deficient adults was assessed using two-ways variance analysis (age, clinical status) with repeated measurements. A principal component analysis (PCA) was applied to perfect multivariate data interpretation.

Results: Speed, stride length, total power and force significantly already decreased ($p < 0.01$) at the age of 2 months. The other gait variables (stride frequency, relative power distributions along the three axes) became modified at later stages. Using the PCA analysis, a global gait index taking into account the main gait variables was calculated, and was also consistent to detect the early changes in the GRMD gait patterns, as well as the progressive degradation of gait quality.

Conclusion: The gait variables measured by the accelerometers were sensitive to early detect and follow the gait disorders and mirrored the heterogeneity of clinical presentations, giving sense to monitor gait in GRMD dogs during progression of the disease and pre-clinical therapeutic trials.

Mesoangioblast stem cells ameliorate muscle function in dystrophic dogs.

Sampaolesi M, Blot S, D'Antona G, Granger N, Tonlorenzi R, Innocenzi A, Mognol P, Thibaud JL, Galvez BG, Barthélémy I, Perani L, Mantero S, Guttinger M, Pansarasa O, Rinaldi C, Cusella De Angelis MG, Torrente Y, Bordignon C, Bottinelli R, Cossu G.
Nature 2006, nov 30, 444 (7119)574-9

Abstract

Duchenne muscular dystrophy remains an untreatable genetic disease that severely limits motility and life expectancy in affected children. The only animal model specifically reproducing the alterations in the dystrophin gene and the full spectrum of human pathology is the golden retriever dog model. Affected animals present a single mutation in intron 6, resulting in complete absence of the dystrophin protein, and early and severe muscle degeneration with nearly complete loss of motility and walking ability. Death usually occurs at about 1 year of age as a result of failure of respiratory muscles.

Here we report that intra-arterial delivery of wild-type canine mesoangioblasts (vessel-associated stem cells) results in an extensive recovery of dystrophin expression, normal muscle morphology and function (confirmed by measurement of contraction force on single fibres). The outcome is a remarkable clinical amelioration and preservation of active motility. These data qualify mesoangioblasts as candidates for future stem cell therapy for Duchenne patients.

Annexe 13

Stratégie visant à réduire le nombre d'études de toxicologie.

Extraits du document « Consultation publique de l'EFSA: le comité scientifique évalue l'approche du seuil de préoccupation toxicologique (12 juillet 2011)

L'Autorité européenne de sécurité des aliments (EFSA) a soumis à une consultation publique un projet d'avis dans lequel sont évaluées la pertinence et la fiabilité de l'approche dite du seuil de préoccupation toxicologique (TTC – *Threshold of Toxicological Concern*) en tant qu'outil destiné à réaliser des évaluations qualitatives et à fournir des conseils scientifiques sur les risques pour la santé humaine liés à de faibles niveaux d'exposition à des substances présentes dans l'alimentation humaine et animale.

.....L'amélioration des méthodes analytiques permet de détecter des substances chimiques dans l'alimentation humaine et animale à des concentrations faibles et très faibles, ce qui engendre la nécessité d'évaluer les conséquences pour la santé des substances détectées sous formes de traces.

L'approche TTC (TTC – *Threshold of Toxicological Concern*) a été développée dans le but d'évaluer qualitativement le risque présenté par des substances présentes à des niveaux faibles et très faibles et elle peut être utilisée pour l'évaluation initiale d'une substance afin de déterminer s'il est nécessaire de réaliser une évaluation complète des risques. Lorsque la structure chimique d'une substance est connue, le risque pour la santé peut être évalué sur la base de seuils génériques d'exposition humaine à des substances chimiques (valeurs TTC). Des valeurs TTC ont été déterminées pour des substances présentant une structure chimique et une probabilité de toxicité similaires, sur la base des nombreuses données toxicologiques publiées.

En adoptant une approche conservatrice (prudente), les structures chimiques ont été groupées en trois grandes catégories: toxicité faible, modérée et élevée. Les substances sont évaluées en comparant la valeur TTC appropriée avec des données fiables sur l'exposition humaine. Si l'exposition humaine à une substance est inférieure à la valeur TTC, la possibilité d'effets nocifs est considérée comme très faible.

L'avis sur l'approche TTC se penche sur la pertinence et la fiabilité des fondements scientifiques qui étayent cette approche et sur son application possible aux travaux scientifiques de l'EFSA. Il conclut que l'approche constitue un outil de filtrage utile pour les substances dont la structure chimique est connue, lorsque les données de toxicité sont rares ou inexistantes mais que l'on sait que l'exposition est faible. Le recours à l'approche TTC doit absolument s'appuyer sur des estimations fiables de l'exposition humaine et dont on est certain qu'elles ne sont pas sous-estimées. L'avis recommande une utilisation élargie de l'approche TTC dans la mesure où elle pourrait contribuer à diminuer l'utilisation superflue d'animaux dans les tests de toxicité.

L'avis identifie les valeurs TTC qui sont suffisamment étayées pour pouvoir être utilisées dans les évaluations scientifiques de l'Autorité et les domaines dans lesquels il serait envisageable d'appliquer cette approche. Le comité scientifique définit également des catégories de substances, comme les carcinogènes hautement puissants, les métaux et les protéines pour lesquels l'approche TTC n'est pas appropriée.

Cet avis, qui résulte d'une initiative du comité scientifique, s'inscrit dans le cadre des efforts constamment déployés afin d'évaluer de nouvelles méthodologies d'évaluation des risques et de s'assurer ainsi que les approches d'évaluation des risques utilisées au sein de l'EFSA reflètent en permanence les connaissances scientifiques de pointe.

Annexe 14

Coût des animaux de laboratoire.

(Exprimé Hors Taxes)

Compilation de catalogues de fournisseurs de service et animaux de laboratoire.

Primates

Par suite de l'évolution de la législation aussi bien dans les pays dont la faune sauvage comprend des primates que dans les pays utilisateurs de primates, seuls sont accessibles, à des fins d'expérimentation, des primates nés en captivité.

Prix des singes de taille moyenne nés en Europe, macaques ou babouins : de 3.000 à 5.000 € selon leur âge.

Coût de leur hébergement de 10 à 20 € par jour selon la taille de la colonie

Prix des singes sud-américains élevés en Europe: *Saimiri sciureus* : 1.000 €; *Callithrix Jacchus* : 5.000 €

Carnivores domestiques

Seuls sont accessibles à des fins expérimentales des chiens et des chats d'élevage.

Prix moyen d'un chien : autour de 2000€ pour un croisé avec transport – beagle 700 à 1300 € selon l'âge.

Coût d'hébergement d'un chien, selon taille du lot et inclusion ou non de l'amortissement des installations : de 15 à 30 € par jour et par chien..

Lagomorphes

Prix moyen d'un lapin : 55-160 € (une femelle avec portée : 440 €).

Coût d'hébergement d'un lapin, selon taille du lot et inclusion ou non de l'amortissement des installations : 1 à 3 € par jour et par lapin

Rongeurs

Rats : prix selon âge et souches

Non –consanguins : 6,5 à 30 €

Consanguins : 20 à 40 €

Modèles pathologiques : obésité : 50-120 € ; diabète : 300-350 €

Coût d'hébergement d'un rat, selon taille du lot et inclusion ou non de l'amortissement des installations : 0,30 à 1 €.

Souris : prix selon âge et souches

Non –consanguines : 3 – 4 €

Consanguines : 10-35 €

Modèles pathologiques : obésité : 100-120 € ; immunodéficience : 30-120€

Souris transgénique (catalogue) : 100 à 400€

Création d'une lignée transgénique : évaluée à 100.000 €

Coût d'hébergement d'une souris, selon taille du lot et inclusion ou non de l'amortissement des installations : 0,10 à 0,30 €

Cobaye : 40-60€ ; **Gerbille** : 30-35 € ; **Hamster** : 20-30 € ; **Chinchilla** : 90-375 €

Facturation de quelques préparations fondamentales

Cathétérisme vasculaire rats, souris, cobayes : 90 à 220 €

Exérèse d'organes rats, souris : 30 à 115 €

Euthanasie rongeur : 10 € ; carnivores : 20 €

Chirurgie : 92 €/ heure

Annexe 15

Définitions anglaises et nord américaines des méthodes alternatives.

Définition selon Animal Research News and Analysis (The Human Society USA) nov 2006
ari@hsus.org *Coordinating Committee on the validation of alternatives (ICCVAM)*

....2) identification of high priority areas for new and revised non-animal alternative assays with the intention of replacing, reducing and refining animal tests. (Federal Register)

Définition selon FRAME (www.frame.org.uk/Alernat.htm)

" Alternatives are techniques for reducing the number of animals used in medical and scientific research, mitigating the suffering of any animal that have to be used, and, whenever possible, replacing animals by other techniques. This approach is termed the three Rs : Reduction, Refinement, and Replacement." 2002

« The definition of an alternative method is based on the concept of the three Rs. An alternative method is one which enables the number of an animal used to be reduced or which refines the procedures used to minimise pain and improve the well-being of the animals, or which enables the complete or partial replacement of the use of whole living animal" 2006

Définition selon Purchase F.M. et M.Nedeva (" The impact of the introduction of the ethical review process for research using animals in the U.K. : implementation of policy." Laboratory Animals (2002) 36, 68-85, p 77).

"Alternatives are defined in the questionnaire as follow:

Experimental methods which may be used to refine animal experiments by improving their design and conduct, Reduce the use of animals, particularly while achieving the objectives of a project license, or Replace animals while achieving the objectives of the project license. Alternatives are often referred to in terms of Refinement, Reduction, or Replacement, or the 3Rs."

Définition selon l' USD Agriculture/ Animal Welfare Information Center

« The 3Rs alternatives: Reduction.....Refinement..... Replacement: substitute animals models with non-animal techniques or lower organisms"

A.C.D. Bayvel *The use of animals in agriculture and science: historical context, international considerations and future direction.* Rev.sci.Off.int.Epiz., 2005,24 (2) 791-797

The decision almost 50 years ago, by the Universities Federation for Animal Welfare to support the work which ultimately led to the publication of Russell et Burch's "Principles of humane experimental technique" was a major historical milestone and, certainly, emphasises the notion of incremental change and the marriage of animal welfare and quality scientific objectives.

The four World Congress on alternative and animal use in life sciences, held from 1993 to 2002, have undoubtedly made a major contribution to international dialogue on this subject. Over this period there have been numerous advances in the Three Rs research and application and, thus, in laboratory animal welfare and biomedical science.

The establishment of organisations such as the European Centre for the Validation of Alternative Methods and the USA Interagency Coordinating Committee on the Validation of Alternative Methods have been significant international developments to ensure that this momentum is maintained.

The U.K. Government has recently responded positively to a 2001 House of Lords Select Committee, which consider the use of animal in science and called for the establishment a centre for the Three Rs, to encourage relevant work in existing centres for excellence.

The new centre will be known as the National Centre for the Replacement , Refinement, and Reduction of Animals in Research and will be based around the Medical Research Council's existing Centre for Best Practice for Animals in Research in London.

The new centre will not do the research itself; rather, it will perform a coordinating role to advance and promote the Three Rs in research and testing using animals

C.GAUTHIER et G.GRIFFIN. *Using animal in research, testing and teaching.* Rev.sci.Off.int.Epiz., 2005,24 (2) 735-745

*The evolution of the Three Rs concept has been described by Balls et al (The Three Rs : the way forward : the report and re commendations of the European Centre for the Validation of Alternative Methods (ECVAM Workshop11) 1995. ATLA, 23, (6) 838-866).It is important to note that collectively the Three Rs have been termed "alternatives" following the 1978 publication of " **Alternatives to Animal Experiments**" par **David Smyth**, (Scholar Press London) a physiologist and President of the U.K. Research Defence Society.*

Annexe 16

Notes sur le test EvaTOX.

Données de base

Test *in vitro*, d'évaluation en toxicologie systémique, mis au point par une start-up Novaleads, liée à l'INSA de Toulouse, associant physiciens et biologistes cellulaires.

Principe : met en évidence la détérioration et l'apoptose de cellules humaines en culture par une technique originale de spectro-fluorométrie rendant compte d'échanges d'énergie au sein des cellules (technique déjà mise en œuvre dans son principe et par cette équipe, à propos d'un test de criblage : CYME, utilisé par les industriels du médicament)

État de développement

Soutenu par un consortium d'associations de protection des animaux : programme Valitox.

Étalonnage réalisé à propos de 25 substances toxiques, par courbe de corrélation établie à partir de DL 50 humaines collectées par le programme européen MEIC-AcuteTox , et les EC 50 mesurées par le test pour les mêmes substances. Le coefficient de corrélation obtenu permet d'avancer une validité de 86% contre 65 et 61% pour les DL 50 évaluées chez la souris ou le rat.

Évaluation et Validation : dossier déposé à l'ECVAM en avril 2011 ; élargissement de l'étalonnage à une cinquantaine de substances, puis à une centaine ; recherche de partenaires pour répondre aux appels d'offres européens.

Publications : semblent limitées ; seule référence répertoriée : communication au 7^e Congrès Mondial sur les méthodes animales et alternatives (Rome sept 2009) publiée dans ALTEX 26,supp, p.130, 2009.

Intérêt/ objectifs

Test présenté comme : « robuste, rapide, simple à mettre en œuvre et adapté à tous les lecteurs de fluorescence de paillasse ou à haut débit » de fiabilité supérieure à celle des modèles rats ou souris.

Vise la toxicité systémique d'origine chimique type programme REACH, ou biologique : programme PNA (toxicité des huîtres du bassin d'Arcachon- Pr Narbonne) ou les évaluations écotoxicologiques (études au profit du gouvernement Équatorien)

Remarque : ne sera probablement pas validé et homologué par l'ECVAM avant 5 ans.

Annexe 17

Règlement REACH

Extraits du rapport de l'OPECST [7] pages 24 et 25

Le règlement relatif à l'enregistrement, l'évaluation et l'autorisation de substances chimiques, adopté le 18 décembre 2006, définit une procédure permettant, sur une période de 11 années, de procéder à l'enregistrement de quelque 30 000 substances chimiques aujourd'hui mises sur le marché et rendant les industriels responsables de l'innocuité des produits.

Destiné à répondre aux exigences des consommateurs européens en matière de sécurité sanitaire et environnementale des produits chimiques, REACH prend également en considération la nécessité d'éviter une explosion du nombre de tests réalisés sur les animaux (9 à 16 millions d'animaux seraient nécessaires selon certaines estimations⁽¹⁾).

REACH définit divers principes propres à faciliter sa mise en œuvre tout en tentant de limiter autant que possible le nombre d'animaux susceptibles d'être utilisés afin de répondre à ses exigences :

- établissement d'un ordre de priorité selon le tonnage de produits concernés (2) et selon la dangerosité des substances (3) ,
- définition d'un plan de substitution des substances les plus dangereuses par des substances alternatives moins nocives,
- introduction d'un système de partage de données, sous l'égide de la nouvelle agence créée (l'agence européenne des produits chimiques) visant à éviter la duplication de tests déjà réalisés sur des animaux.

(1) 54 millions sur 10 ans selon Thomas Hartring (JHSPH – « Nature » - Vol. 460/27 – Août 2009)

(2) 2010 au-delà de 1000 tonnes ; dans un délai de 6 ans de 100 à 1000 tonnes ; dans un délai de 11 ans en deçà de 100 tonnes

(3) Au cours des trois premières années, l'enregistrement concernera prioritairement les substances CHR nocives pour le système reproductif, les substances persistantes bio accumulatives (PBT), VPVB.

Annexe 18

Méthodes substitutives et alternatives (3R) validées ou en cours de validation par la réglementation européenne (2011)

Extraits du système TSAR: Tracking System for Alternative test methods, Review validation and approval in the context of UE régulations and chemicals. Source : www.tsar.jrc.europa.eu

Le système TSAR est développé par le Joint Research Centre de l'Institute for Health and Consumer Protection, organe de la Commission européenne.

Discipline	Test	Nature	Rôle	Situation
Toxicité cutanée	Episkin	<i>in vitro</i>	Remplacement	UE/2000 OCDE
	TER	<i>in vitro</i> (résistance cutanée)	Remplacement	UE/2000 OCDE
	Epiderm	<i>in vitro</i>	Remplacement	UE/2000 OCDE
	Skin ethics	<i>in vitro</i>	Remplacement	UE/2009 OCDE
	EST -1000 TM	<i>in vitro</i>	Remplacement	UE/2000 OCDE
	Modified Epiderm	<i>in vitro</i>	Remplacement	UE/2009 OCDE
	Corrositex	<i>in vitro</i>	Remplacement partiel	UE en cours OCDE ECHA
Toxicité oculaire	BCOP	<i>in vitro ex vivo</i>	Remplacement partiel	UE/2010 OCDE ECHA
	ICE	<i>in vitro ex vivo</i>	Remplacement partiel	UE/2010 OCDE ECHA
	IRE	<i>in vitro ex vivo</i>	Remplacement partiel	Non validé études complémentaires ECHA
	HETCAM	<i>in vitro ex vivo</i>	Remplacement partiel	Non validé études complémentaires ECHA

	CM	<i>in vitro</i>	Remplacement partiel	Non validé études complémentaires en cours OCDE
	FL	<i>in vitro ex vivo</i>	Remplacement partiel	Non validé études complémentaires en cours OCDE
	LVET	<i>in vivo</i>	Réduction « Refinement »	Non validé études complémentaires
Sensibilisation cutanée	LLNA	<i>in vivo</i> (nœuds lymphatiques)	Réduction « Refinement »	UE/2004 OCDE ECHA
	LLNA DA	<i>in vivo</i> (nœuds lymphatiques)	Réduction « Refinement »	UE en cours OCDE
	LLNA BrdU	<i>in vivo</i> (nœuds lymphatiques)	Réduction « Refinement »	UE en cours OCDE
Mutagenèse	Micronucléus	<i>in vitro</i>	Réduction	UE en cours OCDE ECHA
Toxicologie systémique aiguë	FDP	<i>in vivo</i>	Réduction « Refinement » (stratégie)	UE 1992 OCDE
	ATC	<i>in vivo</i>	Réduction (stratégie)	UE 1996 OCDE
	Up and Down	<i>in vivo</i>	Réduction (stratégie)	UE non prioritaire OCDE ECHA
	Acute Inhalation Tox	<i>in vivo</i>	Réduction (stratégie)	UE en cours OCDE
	ATC inhalation		Réduction	UE en cours OCDE
	Starting doses for acute oral toxicity	<i>in vivo</i>	Réduction « Refinement » (stratégie)	Refoulé UE ? OCDE
Toxicologie chronique	Aucun test			
Reproduction	EST (cellules embryonnaires)	<i>in vitro</i> (sacrifice des géniteurs)	Remplacement partiel	Stand by UE ECHA

	MM(cellules embryonnaires)	<i>in vitro</i> (sacrifice des géniteurs)	« Refinement »	Stand by UE ECHA
	WET (cellules embryonnaires)	<i>in vitro</i> (sacrifice des géniteurs)	« Refinement »	Stand by UE ECHA
Divers	Phototoxicity	<i>in vitro</i>	Remplacement	UE 2000 OCDE
	Cutaneous Absorption	<i>in vitro</i>	Remplacement	UE 2008 OCDE
	STTA for EDS	<i>in vitro</i> (récepteurs œstrogènes)	Réduction Remplacement	UE en cours OCDE
Toxicité aiguë poissons	FTA	<i>in vivo</i>	Réduction (stratégie)	UE en cours OCDE ECHA

Case avec OCDE : recommandation OCDE ; acquise pour 25 tests.

Case avec ECHA : test inclus dans « *Information requirements and chemical safety* » REACH Guidance (mai 2008): 13, dont 3 validés par l'ECVAM et 7 par l'OCDE.

Tests validés par l'ECVAM introduits dans la réglementation européenne:

toxicité cutanée : 6 ;

toxicité oculaire : 2 ;

sensibilisation cutanée : 1 ;

toxicologie systémique aiguë : 2 ;

phototoxicité : 1 ;

absorption cutanée : 1;

soit 13 tests, dont 8 *in vitro* ; 2 *in vitro-ex vivo* ; 3 *in vivo* .

Aucun test ne concerne la toxicologie chronique et la toxicologie de la reproduction.

Annexe 19

Méthodes substitutives et alternatives (3R) en cours d'études subventionnées dans le cadre des organisations européennes (2011)

Extrait de www.AXLR8.eu [42]

.....Over the last 20 years, the European Framework Programmes for Research and Technology Development have contributed more than 200 million € toward the development of non-animal models for drug development, chemical toxicity and ecotoxicology and product safety assessment. Earlier this year, an additional 50 million € in funding has been provided under the EU/COLIPA Joint Research Initiative aimed at developing replacement approaches for repeated dose toxicity. The following are specific EU-funded projects with the potential to lay the ground for a shift toward a new, innovative approach in toxicology.

- 1) ACuteTox: Optimisation and pre-validation of an *in vitro* test strategy for predicting human acute toxicity
- 2) ARTEMIS : *In vitro* neural tissue system for replacement of transgenic animals with memory/learning deficiencies
- 3) BioSim: Network of excellence on biological, pathological and pharmacological processes
- 4) CADASTER: Case studies on the development and application of *in silico* techniques for environmental hazard and risk assessment
- 5) CarcinoGENOMICS: Development of high throughput genomics-based tests for assessing genotoxic and carcinogenic properties of chemical compounds *in vitro*
- 6) COACH: Coordination of projects on alternative approaches to assess repeated dose toxicity of cosmetics and chemicals
- 7) COMICS: Comet assay and cell array for fast and efficient genotoxicity testing
- 8) COSMOS: Integrated *in silico* models for the prediction of human repeated dose toxicity of cosmetics to optimise safety
- 9) DETECTIVE: Detection of endpoints and biomarkers for repeated dose toxicity
- 10) ESNATS: Embryonic stem cell-based novel alternative testing strategies
- 11) EXERA: Development of 3D *in vitro* models of estrogen-reporter mouse tissues for the pharmacotoxicological analysis of nuclear receptor-interacting compounds
- 12) HeMiBio: Hepatic microfluidic bioreactor
- 13) INVITROHEART: Reducing animal experimentation in drug testing by human cardiomyocyte *in vitro* models derived from embryonic stem cells

- 14) LIINTOP: Optimisation of liver and intestinal *in vitro* models for pharmacokinetic and pharmacodynamic studies
- 15) MEMTRANS: Membrane transporters: *in vitro* models for the study of their role in drug fate
- 16) NanoTEST : Development of methodology for alternative testing strategies for the assessment of the toxicological profile of nanoparticles used in medical diagnostics
- 17) NOTOX: Predicting long-term toxic effects using computer models based on systems characterisation of organotypic cultures
- 18) OpenTox: Promotion, development, acceptance and implementation of QSARs (Quantitative Structure Activity Relationship) for toxicology
- 19) OSIRIS: Optimized Strategies for Risk Assessment of Industrial Chemicals through Integration of Non-Test and Test Information
- 20) PREDICT-IV: Profiling the toxicity of new drugs: a non-animal-based approach integrating toxicodynamics and biokinetics
- 21) Predictomics Short-term: *in vitro* assays for long-term toxicity
- 22) ReproTect: Development of a novel approach in hazard and risk assessment of reproductive toxicity by a combination and application of *in vitro*, tissue and sensor technologies
- 23) SCR&Tox: Stem cells for relevant, efficient, extended, and normalised toxicology
- 24) Sens-it-iv: Novel testing strategies for *in vitro* assessment of allergens
- 25) ToxBank : Supporting integrated data analysis and servicing of alternative test methods in toxicology
- 26) TOXDROP : Innovative 'cell-on-chip' technology to screen chemicals for toxicity, using cultured cells with tiny 'nanodrops' of culture fluid
- 27) Virtual Physiological Human EU network of excellence to support progress in biomedical modelling and simulation of the human body
- 28) VITROCELLOMICS: Reducing animal experimentation in preclinical predictive drug testing by human hepatic *in vitro* models derived from embryonic stem .

Nature des tests étudiés : *In vitro* : 20 ; utilisant éventuellement des résultats obtenus *in vivo* : 7 ; *in vivo* : 1.

Stratégies générales et spécialisées (optimisation des données) : 8 dont 3 *in silico*.

Etudes intégrées, computationnal toxicology : 6 Tests spécialisés : 11

Objectifs : toxicologie : 17 ; pharmacologie : 8 ; communs : 3 aucun test en vue de développer les connaissances fondamentales (peut –être le bioréacteur pour hépatocytes).

Annexe 20

Méthodes *in vivo* et *in vitro* (substitutives et alternatives) proposées en tant que standards internationaux par l'OCDE (2011).

Extraits de

« Lignes directrices de l'OCDE pour les essais de produits chimiques, Section 4 Effets sur la santé »
www.oecd.ilibrary.org

.....Cette batterie d'outils est particulièrement utile pour les professionnels dans les tests réglementaires de sécurité..... de notification et d'enregistrement des produits chimiques..... Ce groupe d'essais est consacré aux effets sur la santé.

Essai n° 443 : Étude étendue de toxicité pour la reproduction sur une génération

Essai n° 456 : Essai de stéroïdogénèse H295R

Essai n° 488 : Essais de mutations génétiques des cellules somatiques et germinales de rongeurs transgéniques

Essai n° 417: Toxicocinétique

Essai n° 429: Sensibilisation cutanée

Essai n° 439: Irritation cutanée *in vitro*

Essai n° 442A : Sensibilisation cutanée

Essai n° 442B : Sensibilisation cutanée

Essai n° 487 : Essai *in vitro* de micronoyaux sur cellules de mammifères

Essai n° 403 : Toxicité aiguë par inhalation

Essai n° 412 : Toxicité subaiguë par inhalation : étude sur 28 jours

Essai n° 413 : Toxicité subchronique par inhalation : 90 jours

Essai n° 451: Études de cancérogenèse

Essai n° 452: Études de toxicité chronique

Essai n° 453 : Études combinées de toxicité chronique et de cancérogenèse

Essai n° 436 : Toxicité aiguë par inhalation – Méthode par classe de toxicité aiguë

Essai n° 437 : Méthode d'essai d'opacité et de perméabilité de la cornée bovine pour l'identification de substances corrosives et fortement irritantes pour l'œil

- Essai n° 438: Méthode d'essai sur œil de poulet isolé pour l'identification de substances corrosives et fortement irritantes pour les yeux
- Essai n° 441: Bio-essai de Hershberger sur le rat
- Essai n° 455 : Essai d'activation transcriptionnelle faisant intervenir le récepteur d'œstrogène alpha humain transfecté de façon stable pour la détection de l'activité œstrogénique agoniste des substances testées
- Essai n° 407: Toxicité orale à doses répétées - pendant 28 jours sur les rongeurs
- Essai n° 425: Toxicité aiguë par voie orale: méthode de l'ajustement des doses
- Essai n° 426 : Étude de neurotoxicité pour le développement
- Essai n° 440 : Bio-essai utéro-trophique chez les rongeurs
- Essai n° 435 : Méthode d'essai in vitro sur membrane d'étanchéité pour la corrosion cutanée
- Essai n° 427: Absorption cutanée : méthode in vivo
- Essai n° 428: Absorption cutanée : méthode in vitro
- Essai n° 430: Corrosion cutanée in vitro : Essai de résistance électrique transcutanée (RET)
- Essai n° 431: Corrosion cutanée in vitro :Essai sur modèle de peau humaine
- Essai n° 432: Essai de phototoxicité in vitro 3T3 NRU
- Essai n° 404: Effet irritant/corrosif aigu sur la peau
- Essai n° 405: Effet irritant/corrosif aigu sur les yeux
- Essai n° 420: Toxicité orale aiguë - Méthode de la dose prédéterminée
- Essai n° 423: Toxicité orale aiguë - Méthode par classe de toxicité aiguë
- Essai n° 414: Étude de la toxicité pour le développement prénatal
- Essai n° 416: Étude de toxicité pour la reproduction sur deux générations
- Essai n° 408: Toxicité orale à doses répétées - rongeurs: 90 jours
- Essai n° 409: Toxicité orale à doses répétées - non-rongeurs: 90 jours
- Essai n° 424: Étude de neurotoxicité
- Essai n° 471: Essai de mutation réverse sur des bactéries
- Essai n° 473: Essai d'aberration chromosomique in vitro chez les mammifères
- Essai n° 474: Le test de micronoyaux sur les érythrocytes de mammifères
- Essai n° 475: Essai d'aberration chromosomique sur moelle osseuse de mammifères

- Essai n° 476: Essai in vitro de mutation génique sur des cellules de mammifères
- Essai n° 483: Toxicologie génétique: Essai cytogénétique sur cellules germinales de mammifère
- Essai n° 486: Essai de synthèse non programmée de l'ADN (UDS) sur des hépatocytes de mammifères in vivo
- Essai n° 422: Étude combinée de toxicité à doses répétées et de dépistage de la toxicité pour la reproduction et le développement
- Essai n° 418: Neurotoxicité différée de substances organophosphorées à la suite d'une exposition aiguë
- Essai n° 419: Neurotoxicité différée de substances organophosphorées: Étude à dose répétée sur 28 jours
- Essai n° 421: Essai de dépistage de la toxicité pour la reproduction et le développement
- Essai n° 406: Sensibilisation de la peau
- Essai n° 401: Toxicité orale aiguë
- Essai n° 402: Toxicité cutanée aiguë
- Essai n° 479: Toxicologie génétique: Essai in vitro d'échange de chromatides-sœurs sur cellules de mammifère
- Essai n° 480: Toxicologie génétique: *Saccharomyces cerevisiae*, essai de mutation génique
- Essai n° 481: Toxicologie génétique: *Saccharomyces cerevisiae*, essai de recombinaison mitotique
- Essai n° 482: Toxicologie génétique: Lésion et réparation d'ADN - Synthèse non programmée de l'ADN (UDS) sur cellules de mammifère - in vitro
- Essai n° 484: Toxicologie génétique: Spot test chez la souris
- Essai n° 485: Toxicologie génétique: Essai de translocation héréditaire chez la souris
- Essai n° 477: Toxicologie génétique: Essai de mutation létale récessive liée au sexe chez *Drosophila melanogaster*
- Essai n° 478: Toxicologie génétique: Essai de mutation létale dominante chez le rongeur
- Essai n° 415: Étude de toxicité pour la reproduction sur une génération
- Essai n° 410: Toxicité cutanée à doses répétées: 21/28 jours
- Essai n° 411: Toxicité cutanée subchronique: 90 jours

Annexe 21

Organismes européens et américains concernés par le développement et la diffusion de techniques substitutives et alternatives (3 R) en toxicologie (1993-2011).

L'AXLR 8 (accelerate !!) créé par des organismes universitaires préoccupés par les conséquences du programme REACH, vise à coordonner les efforts de la communauté scientifique européenne en vue de remplacer les méthodes classiques et réglementaires en matière de toxicologie aiguë et de toxicologie de la reproduction qui font appel à l'animal de laboratoire par l'utilisation intensive des progrès de la bioinformatique et de la génomique fonctionnelle, dans le cadre de stratégies intégrées. Les supports biologiques à ces approches sont constitués par des cellules et des tissus d'origine animale ou humaine [42]. L'ensemble des recherches coordonnées par l'AXLR8 et financées par l'Union Européenne est présenté en (Annexe 19)

Piloté par la Vrije Universiteit de Bruxelles et associant l'industrie pharmaceutique européenne et diverses sociétés concernées par le bien-être animal, l'**ECOPA** propose la coordination d'objectifs pragmatiques directement liés à la recherche pharmaceutique et envisageant l'ensemble des aspects des 3Rs. Il s'agit essentiellement de coordonner la résolution des problèmes posés par l'utilisation des animaux transgéniques ou par la réduction systématique du nombre des animaux dans le contrôle de qualité des vaccins, de stimuler la mise au point de méthodes non invasives et de marqueurs biologiques prédictifs d'effets cliniques. Bien que très soucieux des aspects de compétitivité l'Ecopa propose aussi une réflexion sur la possibilité de diffusion des résultats qualifiés de négatifs. [36]

Créé en 1993 par les industriels de la chimie, de la cosmétique, de la pharmacie et des produits de consommation, l'**IVTIP** (In Vitro Testing Industrial Platform), a pour objectif final la disparition dans le secteur industriel de l'expérimentation sur les animaux vivants, en passant par l'étape intermédiaire des 3R. Elle se propose, d'encourager, et surtout de diffuser auprès de ses membres toutes informations utiles à la mise en œuvre, en milieu industriel, d'épreuves toxicologiques faisant appel aux techniques *in vitro*. [32]

Le National Center for Computational Toxicology (USA) membre du National Institute of Environment Health Sciences, en collaboration avec l'US Environment Protection Agency, le NIH et la FDA développe depuis 2009 le **Comptox** (Computational Toxicology Research Program). Il s'agit grâce à la bioinformatique de développer des modèles de l'intoxication aiguë et chronique humaine par des agents chimiques en vue d'établir des tests d'évaluation toxicologique rapides et fiables. L'approche de ce centre rassemble le maximum de données, aussi bien de type *in silico*, qu'issue des essais sur animaux ou des observations cliniques, afin de valider des systèmes intégratifs capables de traiter le plus rapidement possibles un grand nombre de molécules. Ainsi le programme prévoit d'éprouver 650 tests rapides proposés par les différentes disciplines biomédicales sur 1.000 molécules à toxicité potentielle ou connue dont 100 fournies par l'industrie pharmaceutique. Deux projets majeurs : Foie humain virtuel et Embryon virtuel associent données obtenues chez l'animal, résultats de screening *in silico* et effet sur culture de tissus, ces données étant traitées par des modèles informatiques en cours de développement.[43]

De l'étude des programmes de ces différents organismes il peut être conclu que l'approche future de la toxicologie combinera, données animales, données des revues *in silico*, données *in vitro* et traitement intégratif par des modèles informatiques. Sa nature pluridisciplinaire, déjà affirmée ne fait que s'étoffer. Il est à remarquer que les rédacteurs des différents textes relatifs à Comtox ne mettent jamais en avant la substitution totale de l'expérimentation animale mais la complémentarité des différentes approches pour pouvoir, aux USA, traiter dans des délais raisonnables un nombre de molécules aussi important que celui envisagé dans le cas du projet européen REACH.

Annexe 22

Prise en compte de la douleur en expérimentation

Guide de surveillance et d'évaluation de la douleur chez les rongeurs à l'usage des comités d'éthique (IACUC)

Extrait de http://www.aclam.org/Content/files/files/Public/Active/position_pain-rodent-rabbit.pdf

Site de l' ACLAM (American College for Laboratory Animal Medicine) <http://www.aclam.org/>

.....Relevant questions include:

1. What will be the cause of pain? Different types of painful stimuli lead to different clinical signs. For example, visceral pain in rodents will often lead to writhing-type movements, whereas neuropathic pain due to lesioning of a peripheral nerve may lead to self-mutilation of the affected limb.

2. What is the anticipated pain intensity and duration? Are the experimental manipulations expected to cause acute, highly intense pain or mild but chronic pain? These two situations usually elicit different behavioral and physiological signs of pain. Will any analgesic drugs chosen for the study be appropriate for the pain intensity and duration? This should include the consideration that chronic pain is often much more difficult to effectively treat and often requires a combination of analgesic drugs and perhaps inclusion of husbandry, exercise and perhaps additional alternative medicine therapies, as well, to be truly effective.

3. Will more than one painful manipulation occur in the study that will manifest in different clinical signs?

4. Will a manipulation make it difficult for the animal to show pain after subsequent manipulations?

5. How will criteria for pain perception be used to define when appropriate analgesic therapy should be instituted?

6. Is the primary investigator familiar with detecting pain in this animal model? Will the research team recognize pain when they see it? The team must understand the known diversity in expression and sensitivity to pain in various rodent species and strains and sexes. If needed, pilot studies with significant participation of a clinical veterinarian can be helpful to identify signs and behaviors deviating from normal that would suggest the animals are in pain or distress.

7. Are the criteria proposed for detecting pain in this model unambiguous such that all members of the research team as well as the veterinary staff will recognize and acknowledge the occurrence of pain? Alternatively, are the criteria highly subjective such that disagreement will occur throughout the conduct of the study? Will ambiguity prevent staff members from taking an active role to mitigate pain?

8. When will the animals be observed for signs of pain perception? Does this schedule afford appropriate timing for evaluating signs indicative of pain? Or will the signs most associated with pain

be missed in, for example, sleeping animals? Because rodents are nocturnal and primarily active at night, can the research team expect to see signs of decreased ambulation and appetite, which may be used to indicate pain perception, during daylight hours? Will the temporal plan for observing signs of pain correlate with anticipated duration of analgesics administered to relieve pain?

9. Who will observe the study animals to decide if they are in pain? Are their contact numbers (work, home telephone, cell pager numbers) posted so that they can be contacted if needed to treat animals thought to be in pain?

10. Are all members of the research team that are responsible for animals in the proposed study skilled in the needed techniques and empowered to take action if they detect animals in pain? Alternatively, will they need to "call in" other team members with higher-level authority and skills to administer analgesic drugs, invoke humane endpoints, etc., risking added time that the animal(s) may suffer thus increasing the time period before appropriate strategies to obtund pain are implemented?

11. Should the IACUC observe the animals and judge for itself whether or not pain is occurring? This role is often delegated to the veterinary staff and their clinical observations are discussed with the IACUC if there are procedural or compliance concerns. Occasionally, members of the IACUC will want to observe study methods and animals themselves to learn about the animal models as well as perform post-approval monitoring of compliance.

12. Will neuromuscular blockers be used in any component of the study such that behavioral signs of pain would not be observed?

13. Is pain research, per se, the objective of the proposed study? In studies of this nature, some pain will be expected (such as movement in regard to heat or pressure). Acute pain research studies often use methods that are uncomfortable (just above the pain threshold level) but not agonizing for the animal. How can intolerable pain, which cannot be escaped or terminated by the animal, be recognized?

14. Has the plan for pain recognition allowed for professional judgment?

15. How will the IACUC, veterinary staff, and research team manage animals that cannot be given analgesics for scientific reasons but are showing signs clearly thought to be due to pain? In these cases, has an effort been made to consider all of the various classes of analgesic drugs, routes of administration and drug clearance metrics before concluding that no option exists for analgesic management short of euthanasia?

16. Is it appropriate in an individual protocol for the IACUC and research staff to prospectively conclude that the planned procedure(s) carry such a high likelihood for pain that the research staff should deliver analgesics intraoperatively to prevent the animals from feeling pain upon awakening from anesthesia? In humans, classes of surgical manipulations are known to carry a high risk for intense postoperative pain, such that the great benefit of intraoperative (pre-emptive) analgesia overcomes the risk of needlessly administering analgesics to the patient. To this end, animal models of these same procedures might benefit from a similar risk: benefit assessment for early analgesic administration. This is but one example illustrating the concept of pre-emptive analgesia in research animals (this concept is discussed elsewhere in this paper in depth) but is certainly not the only

situation wherein professional judgment may well dictate that the animals should be given the "benefit of the doubt" and administered analgesia prior to showing signs of pain.

17. Does the IACUC have a mechanism in place to follow and track animals used in chronic studies that may move between the definitions of several pain Categories?

18. Are appropriate mechanisms in place for analgesic drug purchase and storage? (Often including procedures for drug procurement as well as facilities for Storage of controlled substances) and consistent record-keeping that will meet regulatory requirements?

19. Is there a mechanism in place to document the IACUC's approved protocol for pain management procedures is being followed?

20. Would there be any benefit to the IACUC by bringing in consultants with particular expertise and training in a specific research discipline to assist in protocol review of an animal model new to the institution? For example, complex and chronic animal models, such as those of Parkinson's Disease, present dilemmas to the IACUC to determine how clinical signs such as debilitation, tremors and dysphagia are best managed to decrease stress and assist the animal with normal daily activities. Often a colleague experienced in successful management of these models can be an invaluable asset to help the IACUC complete a thorough protocol review with added insight to benchmark all aspects of post-approval monitoring and support of the animal model.

21. Would it benefit the IACUC to develop guidelines for procedures that are commonly performed and often are considered to be painful? For example, some institutions that use rabbits for polyclonal antibody production using Freund's Complete Adjuvant have developed guidelines to assist scientists and the IACUC in study design. These guidelines include methods to minimize the chance of contamination during injection, distribute the adjuvant between multiple sites and manage any infected injection sites that may occur.

Voir également [44] et [45]

Annexe 23

Approches de la notion de points-limites.

Extraits du document : Lignes directrices : choisir un point limite approprié pour les expériences faisant appel à des animaux en recherche, en enseignement et dans les tests. Édité par le Conseil Canadien de protection des animaux(CPA).

www.ccac.ca/Documents/Normes/Lignes_directrices/points_Limites.pdf

RESUME DU DOCUMENT

Toute personne impliquée au niveau de l'utilisation des animaux à des fins de recherche, d'enseignement et de tests, nommément, les membres du CPA, les chercheurs et leur personnel de recherche, le vétérinaire des animaux de laboratoire et les techniciens en santé animale, a des responsabilités quant au soin et à l'utilisation humanitaire des animaux d'expérimentation. En travaillant conjointement avec les chercheurs pour l'établissement de points limites appropriés, le CPA devrait veiller à ce que les critères appropriés soient utilisés par le chercheur principal dans la détermination du point limite. Grâce à l'utilisation de listes de vérification des observations et de systèmes d'évaluation quantitative de l'état de l'animal, les points limites les plus objectifs et les plus humanitaires peuvent être identifiés. Les responsabilités relatives à l'observation et à la surveillance de l'état de l'animal doivent être clairement définies. Les personnes impliquées dans l'établissement et la validation des points limites sont encouragées à présenter et à publier leurs données afin de soutenir les efforts continus du raffinement des pratiques recourant à l'utilisation d'animaux en recherche biomédicale.

TABLE DES MATIÈRES

- INTRODUCTION
- PRINCIPE DIRECTEUR GÉNÉRAL
- PROCÉDURES RECOMMANDÉES POUR LE CHOIX D'UN POINT LIMITE APPROPRIÉ
 - a. Observer les animaux de manière appropriée
 - b. Évaluation quantitative des observations physiologiques afin de choisir et de raffiner les points limites
 - c. L'identification d'indicateurs comportementaux significatifs de souffrance et/ou de détresse
- UTILISATION D'ÉTUDES PRÉLIMINAIRES OU PILOTES AFIN DE DÉTERMINER LES POINTS LIMITES APPROPRIÉS
- DÉTERMINATION DE LA FRÉQUENCE NÉCESSAIRE POUR LES OBSERVATIONS DES ANIMAUX
- DÉFINIR LES RESPONSABILITÉS RELATIVES À L'OBSERVATION DES ANIMAUX
- FORMATION DU PERSONNEL POUR L'OBSERVATION CLINIQUE DES ANIMAUX

- LE RÔLE DU COMITÉ INSTITUTIONNEL DE PROTECTION DES ANIMAUX DANS L'ÉTABLISSEMENT DE POINTS LIMITES

- PRINCIPES DIRECTEURS RELATIFS AU CHOIX DE POINTS LIMITES APPROPRIÉS DANS CERTAINS SECTEURS SPÉCIFIQUES DE LA RECHERCHE BIOMÉDICALE ET DES TESTS

- a. Production d'anticorps monoclonaux chez les rongeurs

- b. Recherche sur le cancer

- c. Études en toxicologie et tests de toxicité

- i. Tests de toxicité aiguë

- ii. Études de toxicité chronique et études du vieillissement

- d. Recherche sur la douleur

- e. Études des maladies infectieuses, essais cliniques de vaccins, etc.

- f. Modèles animaux spécifiques potentiellement associés à des niveaux significatifs de souffrance et/ou de détresse

ANNEXE A - SIGNES SPÉCIFIQUES DE SOUFFRANCE ET/OU DE DÉTRESSE SELON LES ESPÈCES

ANNEXE B - SIGNES DE SOUFFRANCE ET/OU DE DÉTRESSE LORS D'ÉTUDES DE TOXICOLOGIE AVEC DES POISSONS

ANNEXE C - EXEMPLES DE LISTES DE VÉRIFICATION RELATIVES AUX OBSERVATIONS UTILISÉES POUR DÉTERMINER LES POINTS LIMITES

Voir également [38] et [44]

Annexe 24

Concept de « réhabilitation ».

Extraits du site : www.graal-défenseanimale.org . Article 24 de la directive 2010/63/U.E.

.....Sur la base d'un contrat de cession les animaux préalablement sélectionnés par l'unité de recherches pour réhabilitation sont remis à l'association GRAAL (Groupement de Réflexion et d'Action pour l'Animal) qui organise leur retraite à vie soit auprès de particuliers (cas des animaux de compagnie) soit auprès de centres d'accueil spécialisés (primates et animaux de ferme). Ces centres ont été retenus par le GRAAL pour la qualité et la pérennité de leurs installations. L'unité de recherche est invitée à participer à la démarche sous forme logistique ou financière....

.....Convaincu de la nécessité de son action, de sa grande valeur éthique et symbolique, de sa faisabilité opérationnelle, de l'extraordinaire faculté de résilience des animaux (capacité à oublier et à se reconstruire malgré un passé difficile), le GRAAL a tenu son cap et a multiplié ses contacts auprès des laboratoires, institutions et syndicats professionnels, écoles vétérinaires, comités d'éthique, éleveurs d'animaux de laboratoire, ministères, éthologue, comportementalistes....

...Notre démarche, outre les vies épargnées, permet à de nombreux scientifiques de porter « un autre regard » sur les animaux de laboratoire, qui d'objets deviennent sujets de réflexion et de considération..... ..

...Le GRAAL ne « triche » pas avec ses partenaires, quels qu'ils soient, représentants de l'administration, scientifiques, médias ou associations. Notre langage est toujours le même, sans parti pris, sans non-dit, sans violence et toujours sur une base constructive et professionnelle...

.....La réhabilitation peut être un vecteur de réconciliation entre la Recherche et les citoyens. Car si les Français fondent de grands espoirs sur la recherche, ils sont également très attachés aux animaux, qu'ils considèrent comme des membres à part entière de leur famille (sondage IPSOS). Une large reconnaissance du principe de réhabilitation permettrait de réconcilier, en partie, ces intérêts contradictoires.....

Article 24 de la directive 2010/63/U.E. « *Au terme de la procédure, il convient de prendre la décision la plus appropriée quant au sort de l'animal, en fonction de son bien être et des risques potentiels pour l'environnement. Il y a lieu de sacrifier au moyen d'une méthode humaine les animaux dont le bien être serait compromis. Dans certains cas, il convient de mettre en liberté les animaux ou d'autoriser le placement des animaux comme les chiens et les chats dans des ménages, car l'opinion publique se préoccupe grandement de leur sort. Si des établissements prévoient de placer des animaux, il est essentiel que des dispositions soient prises pour les socialiser afin d'assurer le succès de leur placement, d'éviter aux animaux une détresse inutile et de garantir la sécurité publique* ». Procédure en concordance avec l'article R 214-89 du Code rural.

GLOSSAIRE

Alternatives (méthodes)

Méthodes ou approches alternatives : le qualificatif « alternatives » en expérimentation animale est directement issu de son usage par les anglophones. Par souci de rigueur la préférence est donnée à la définition en anglais : « *The definition of an alternative method is based on the concept of the three Rs. An alternative method is one which enables the number of an animal used to be reduced or which refines the procedures used to minimise pain and improve the well-being of the animals, or which enables the complete or partial replacement of the use of whole living animal* » (www.frame.org.uk/Alernat.htm). Il ne doit pas être confondu avec le qualificatif de substitutif qui n'exprime qu'un seul des trois R : le remplacement ou substitution ou, en anglais, "*Replacement : substitute animals models with non-animal techniques or lower organisms*" (www.awic.nal.usda.gov).

Anthropomorphisme

Démarche consistant à attribuer des caractéristiques morphologiques, comportementales, psychiques, voire spiritualistes aux animaux.

Anthropomorphique

Qui suit des principes relevant de l'anthropomorphisme.

Antispéciste

Qualifie un mouvement de protection animale fondé sur le principe que toutes les espèces méritent le même respect et condamne, de ce fait, l'utilisation des animaux par l'homme.

Antivivisectionnistes

Se dit des associations opposées à la vivisection, pratique d'une autre époque, et en fait opposées à toute expérimentation animale.

Bien-être (d'un animal)

État physique et émotionnel d'un animal résultant d'un environnement répondant à ses besoins physiologiques et sociaux. (*Commission de terminologie du ministère chargé de l'Agriculture*).

Bienveillance (d'un animal)

Ensemble des dispositions visant à fournir à un animal des conditions d'environnement dont le but est d'assurer son bien-être. (*Commission de terminologie du ministère chargé de l'Agriculture*).

Continuiste

Se rapporte aux hypothèses de Lamarck et de Darwin selon lesquelles les espèces ont évolué et évoluent au cours du temps, induisant ainsi une continuité transformiste s'opposant au fixisme admis par les premiers naturalistes. Rejette l'opposition homme/ animal.

DL50

Dose létale à 50 p. cent: dose qui entraîne la mort de 50 p.cent de l'effectif auquel une substance chimique est administrée. Son principal domaine d'application est la toxicologie, où la recherche d'une quantification précise a conduit à l'utilisation d'effectifs animaux nombreux. L'existence de tests *in vitro* et la possibilité de ne mettre en œuvre que des effectifs plus faibles dans les essais *in vivo* ont conduit à une réduction des effectifs utilisés actuellement.

Enrichissement (comportemental)

Ensemble de techniques visant à « enrichir » le milieu dans lequel vit un animal en multipliant les sources de stimulations sensorielles susceptibles, d'induire, chez ce dernier, des comportements d'exploration ou des réactions émotionnelles.

Ex vivo

Signifie qu'une étude est réalisée en dehors d'un organisme entier, ce qui est globalement synonyme du terme *in vitro*. Désigne des expériences pratiquées sur des organes entiers maintenus en survie.

In silico

Étude réalisée par des moyens informatiques.

In vitro

Expérience réalisée en dehors de l'organisme sur des organes, fragments d'organes, cellules ou fractions subcellulaires initialement prélevés sur des êtres vivants et maintenus en survie ou se développant en culture.

In vivo

Expérience réalisée sur un organisme entier et vivant.

Lagomorphes

Groupe de Mammifères proche des Rongeurs s'en distinguant par quelques critères concernant leur dentition ou leur tube digestif. Ils incluent les lapins et les lièvres.

Primates

Groupe (Ordre) de Mammifères possédant 5 doigts aux extrémités des membres et, au moins aux membres supérieurs, des pouces opposables aux autres doigts. Ils comportent les lémuriniens, les singes et l'Homme.

Principe de précaution

Démarche consistant à prendre des mesures de protection de l'environnement et/ou de la santé, même en cas d'absence de certitude scientifique sur la réalité de l'agent causal.

Principe de subsidiarité

Règle de répartition des compétences entre l'Union Européenne et ses états membres, qui laisse à ces derniers la responsabilité des actions, si celles-ci sont plus efficaces que celles conduites au niveau supérieur.

Rongeurs

Groupe de Mammifères omnivores ou herbivores caractérisés par une mâchoire dont les mouvements permettent grâce à des incisives très développées et de croissance continue de réduire des matériaux durs tels que des végétaux ligneux. Les rats et les souris sont les plus représentatifs de ce groupe.

Remplacement

Substitution d'une méthode n'utilisant pas d'animaux vivants à une méthode de finalité identique utilisant un modèle animal. *(Inspiré de l'article 4 de la directive EU 2010/63).*

Réduction

Utilisation d'un nombre minimal d'animaux sans compromettre les objectifs et la validité statistique des résultats d'un protocole expérimental. *(Inspiré de l'article 4 de la directive EU 2010/63).*

Refinement

Mise en jeu de méthodes et de moyens techniques visant à éliminer ou réduire tout préjudice physique et/ou émotionnel aux animaux de laboratoire de leur naissance à leur fin de vie, notamment au cours des expérimentations. *(Inspiré de l'article 4 de la directive EU 2010/63).*

Spécisme

Doctrine selon laquelle l'homme méprise les autres espèces animales au point de les exploiter d'une manière qu'ils n'accepteraient pas s'ils étaient humains.

Utilitarisme

Principe philosophique selon lequel on ne doit admettre en morale et en législation d'autre critère que l'utilité, dont l'objectif est d'assurer le bonheur du plus grand nombre.

Utilitariste

Qui suit des principes relevant de l'utilitarisme.

Vivisection

Terme désignant, dans la période initiale de recours à l'expérimentation animale, les interventions sur des animaux non anesthésiés.

=====