



# Quelles **alternatives** en expérimentation **animale** ?

Pratiques et éthique





# Quelles alternatives en expérimentation animale ?

Pratiques et éthique

Francelyne Marano, Philippe Hubert,  
Laure Geoffroy, Hervé Juin, coordinateurs

## Collection *Savoir-faire*

Mémento de pisciculture d'étang  
5<sup>e</sup> édition mise à jour  
Schlumberger O., Girard P.  
2020, 224 p.

Biocontrôle  
Éléments pour une protection agroécologique des cultures  
X. Fauvergue, A. Rusch, M. Barret, M. Bardin, E. Jacquin-Joly, T. Malausa, C. Lannou, coord.  
2020, 376 p.

Réussir l'implantation des cultures  
Enjeux agroécologiques, itinéraires techniques  
J. Boiffin, F. Laurent, G. Richard, coord.  
2020, 440 P.

Pratiques d'élevage et environnement  
Mesurer, évaluer, agir  
S. Espagnol, C. Brame, J.-Y. Dourmad, coord.  
2019, 376 p.

Connectivité et protection de la biodiversité marine  
Dynamique spatiale des organismes marins  
B. Porro, N. Alloncle, N. Bierne, S. Arnaud-Haond, coord.  
2019, 136 p.

### En couverture, de gauche à droite :

Poisson-zèbre (*Danio rerio*) © NERY/Adobe Stock, mouche vinaigre © tacio philip/Adobe Stock,  
image microscopique confocale d'une cellule cancéreuse invasive © drimafilm/Adobe Stock

Éditions Quæ  
RD 10, 78026 Versailles Cedex  
www.quae.com

© Éditions Quæ, 2020

ISSN : 1952-1251

ISBN : 978-2-7592-3187-4  
eISBN : 978-2-7592-3188-1  
xISBN : 978-2-7592-3189-8

Le code de la propriété intellectuelle interdit la photocopie à usage collectif sans autorisation des ayants droit. Le non-respect de cette disposition met en danger l'édition, notamment scientifique, et est sanctionné pénalement. Toute reproduction, même partielle, du présent ouvrage est interdite sans autorisation du Centre français d'exploitation du droit de copie (CFC), 20 rue des Grands-Augustins, Paris 6<sup>e</sup>.

# Sommaire

<b>Préface</b> .....	9
<i>Virginie Vallet</i>	
<b>Introduction L'émergence du concept 3R et des méthodes alternatives</b> .....	13
<i>Jean-Pierre Clot, Francelyne Marano</i>	
<b>Éthique et expérimentation animale</b> .....	13
Évolution du concept d'expérimentation animale : rappels historiques.....	13
La règle des 3R.....	15
Les mouvements de protection des animaux.....	17
L'évolution de la réglementation.....	17
Les comités d'éthique en expérimentation animale.....	18
<b>« Méthodes alternatives en expérimentation animale » : définition et évolutions</b> .....	19
Définition.....	19
Les méthodes développées depuis cinquante ans.....	20
Complémentarité des méthodes <i>in vivo</i> , <i>in vitro</i> et <i>in silico</i> .....	23
<b>Conclusion</b> .....	24
<b>Références</b> .....	24
<b>1. La diversité des méthodes d'investigation dans les sciences du vivant</b> .....	27
<i>Philippe Hubert</i>	
Expérimentation ou observation ; expérience ou essai?.....	28
Les méthodes disponibles.....	28
L'étude d'individus humains, patients et volontaires sains.....	29
L'étude de populations humaines.....	31
Les modèles animaux.....	34
Pourquoi et comment relier les approches?.....	37
Un objectif intégrateur : la causalité.....	37
Les moyens pour relier les méthodes d'investigation.....	39
Conclusion : la nécessité d'une vision globale.....	39
Références.....	40

<b>2. Définir et évaluer une méthode expérimentale crédible</b> .....	43
<i>Céline Boudet</i>	
Quelle validation pour quelles finalités?.....	45
Validation scientifique, reconnaissance et validation réglementaire.....	45
Le processus et les critères de validation réglementaire.....	46
L'expertise associée à l'évaluation de méthodes.....	50
La standardisation des processus d'évaluation.....	50
La crédibilité de l'expertise publique.....	51
Conclusion.....	53
Références.....	55
<b>3. Appliquer les réglementations : contraintes et besoins</b> .....	57
<i>Isabelle Fabre, Sylvie Morgeaux, Paul Houeto</i>	
L'utilisation des méthodes alternatives dans le contexte des réglementations.....	57
Le processus de validation d'une méthode alternative à l'expérimentation animale.....	58
L'utilisation des méthodes alternatives pour le médicament à usage humain.....	62
Pour la recherche et le développement.....	63
Contrôle de la qualité pharmaceutique (QP) du médicament : recommandations de la <i>Pharmacopée européenne</i> et/ou de l'EMA.....	66
Le cas particulier du vaccin.....	67
Utilisation des méthodes alternatives pour le produit chimique.....	69
Les méthodes alternatives préconisées dans le cadre de REACH.....	70
Un exemple de remplacement de l'expérimentation animale : le produit cosmétique.....	71
Le concept de dispense ou <i>waiving</i> .....	72
Apports et limites des méthodes alternatives.....	73
Incertitudes associées aux méthodes alternatives.....	74
Les méthodes alternatives sont-elles suffisantes pour nous apporter une bonne protection?.....	75
Perspectives réglementaires pour les nouveaux modèles alternatifs à l'animal.....	76
Les cellules souches.....	76
Les systèmes microphysiologiques (SMP).....	76
La position de l'Europe.....	77
Conclusion.....	78
Références.....	79

<b>4. Les comités d'éthique animale</b> .....	83
<i>Silvia Vincent-Naulleau, Christophe Joubert, Géraldine Pottier, Olivier Sandra, Patrick Gonin, Rémi Maximilien</i>	
La directive européenne 2010/63/UE : un socle réglementaire pour les comités d'éthique animale.....	84
Champ d'application.....	84
Les contraintes éthiques imposées par l'Europe pour l'utilisation d'animaux à des fins scientifiques.....	85
La transposition française de la directive européenne.....	87
Les principaux acteurs au niveau national.....	87
La procédure d'autorisation.....	88
Les règlements des autres États membres de l'UE et hors UE.....	89
Les autres acteurs impliqués dans l'éthique de l'utilisation de l'animal à des fins scientifiques.....	90
Perspectives.....	92
Références.....	93
<b>5. Méthodes alternatives <i>in vitro</i></b> .....	95
<i>Armelle Baeza, Saadia Kerdine-Römer, Franck Yates</i>	
Les différentes sources cellulaires.....	96
Les lignées cellulaires.....	96
Les cellules primaires.....	97
Les cellules souches.....	97
Que choisir?.....	98
Le rôle du micro-environnement et de la matrice extracellulaire dans la différenciation et son maintien : les modèles 2D et 3D.....	99
Modèle en deux dimensions (modèle 2D).....	99
Modèle en trois dimensions (modèle 3D).....	101
Organoïdes.....	103
Avantages et limites.....	103
Place des méthodes alternatives <i>in vitro</i> dans la réglementation des produits chimiques.....	104
Les méthodes alternatives validées.....	105
Les <i>Adverse Outcome Pathways</i> (AOP).....	105
Les stratégies d'évaluation intégrées.....	110
Références.....	111

<b>6. Méthodes <i>in silico</i> et modélisation des mécanismes de toxicité (AOP)</b> .....	113
<i>Enrico Mombelli, Irene Vignon-Clementel, Dirk Drasdo</i>	
Les chemins de l'effet néfaste (AOP).....	114
La modélisation QSAR.....	116
Rôle de la modélisation QSAR au sein d'un AOP.....	118
Rôle des modèles numériques pour les tissus et les organes .....	119
Modèles compartimentaux.....	119
Modèles spatio-temporels.....	122
Perspectives.....	124
Références.....	125
<b>7. L'imagerie du petit animal et les 3R</b> .....	127
<i>Alain Le Pape</i>	
L'avènement de l'imagerie du petit animal.....	128
Des modalités d'imagerie de nouvelle génération dédiées à la souris.....	128
La bioluminescence.....	129
La fluorescence.....	130
La photo-acoustique.....	130
Les modèles murins de pathologie humaine et la recherche préclinique.....	131
En infectiologie.....	131
En cancérologie.....	134
L'imagerie interventionnelle pour l'induction des modèles de tumeurs orthotopiques.....	134
Les tumeurs mammaires : un exemple de recherche préclinique translationnelle en cancérologie.....	135
Les tumeurs du pancréas : un autre exemple de recherche préclinique translationnelle en cancérologie.....	136
Les souris transgéniques, modèles de cancers spontanés.....	137
Conclusion.....	138
Références.....	138
<b>8. Les apports des omiques</b> .....	141
<i>Thierry Rabilloud</i>	
La pertinence biologique des analyses omiques.....	141
Pertinence intrinsèque.....	141
Le problème de la variabilité et des analyses statistiques.....	143
Le problème de la validation biologique.....	144



Les omiques dans une démarche 3R.....	144
L'augmentation du contenu dans une expérience sur l'animal.....	145
L'augmentation des potentialités des méthodes alternatives.....	145
Conclusion.....	146
Références.....	146
<b>9. Les autres modèles animaux alternatifs.....</b>	<b>149</b>
<i>Laure Geoffroy, Hervé Tricoire</i>	
La diversité des modèles animaux.....	149
Le poisson-zèbre et la recherche translationnelle.....	151
Oursin et neurodégénérescence.....	152
Du ver à l'homme.....	153
La drosophile : la puissance de la génétique au service de l'homme.....	156
Principales caractéristiques du modèle.....	157
Une large boîte d'outils génétiques disponibles.....	157
Drosophile et études pharmacologiques.....	160
Les perspectives pour les modèles de drosophile.....	161
Conclusion.....	162
Références.....	162
<b>10. Les 3R dans l'enseignement et la formation professionnelle.....</b>	<b>165</b>
<i>Martine Kolf-Clauw, Fanny Pilot-Storck</i>	
L'utilisation des animaux à des fins pédagogiques.....	165
Justification.....	165
Une approche progressive recommandée.....	167
Les formations et leur reconnaissance, en France et en Europe.....	168
Comment remplacer les animaux?.....	169
Des méthodes dématérialisées.....	169
Modèles inertes.....	171
Matériels d'origine biologique.....	174
Réduire et raffiner.....	176
Références.....	176
<b>Conclusion.....</b>	<b>179</b>
<i>Hervé Juin, Olivier Sandra</i>	
<b>Liste des sigles et acronymes.....</b>	<b>183</b>
<b>Liste des auteurs.....</b>	<b>185</b>



# Préface

## Pourquoi oppose-t-on expérimentation animale et méthodes alternatives ?

Les États membres de l'Union européenne se sont accordés en 2011 autour du principe suivant :

Pour toute étude scientifique, avant d'utiliser des animaux dans le cadre autorisé, le responsable du projet doit être en mesure de démontrer que l'utilisation d'animaux [vivants] est justifiée pour chaque étude individuelle, qu'aucune des alternatives existantes ne peut être utilisée, que le nombre minimum d'animaux est en cohérence avec l'objectif scientifique et que le projet est conçu pour minimiser toute douleur, souffrance, détresse ou préjudice durable<sup>1</sup>.

Cet impératif rejoint très clairement les principes de la règle des 3R (remplacement, réduction et raffinement) introduite dans la législation française avant même la publication de la première directive européenne protégeant les animaux en science en 1986. En effet, les notions de remplacement et de réduction ont été insérées dans la législation en 1976 (loi de la protection de la nature) puis dans le code rural dans l'article L. 214-3, avec cette stricte nécessité pour les expériences biologiques médicales et scientifiques utilisant ces animaux reconnus sensibles. La règle fondamentale et réglementaire des 3R telle qu'elle est aujourd'hui appliquée par les scientifiques européens trouve son origine dans la monographie *The Principles of Humane Experimental Technique (Les principes d'une technique expérimentale conforme à l'éthique)*, dont la première parution remonte à 1959. Les auteurs William Russell et Rex Burch ont proposé son application dans l'ordre suivant : 1) appliquer le remplacement, le R fondamental ici, « puis-je faire autrement pour atteindre mon objectif scientifique qu'utiliser un animal vivant ? » ; 2) appliquer la réduction, en déterminant le nombre d'animaux optimal pour l'obtention de résultats tangibles ; et 3) appliquer le raffinement, c'est-à-dire faire en sorte que les procédures soient les moins contraignantes possibles pour les animaux. C'est cet ordre précis des chapitres 5, 6 et 7 de la monographie qui a été repris par les législateurs européens puis français il y a une dizaine d'années. Russell et Burch en seraient certainement très heureux s'ils étaient toujours en vie aujourd'hui.

Pourquoi opposer l'expérimentation animale et les méthodes alternatives ? La raison est peut-être tout simplement étymologique ; une « alternative » est une succession de deux choses ou de deux états opposés qui reviennent tour à tour. Les deux expressions

---

<sup>1</sup> Extrait du document consensus européen des 6 et 7 octobre 2011 : [https://ec.europa.eu/environment/chemicals/lab\\_animals/pdf/Consensus\\_document.pdf](https://ec.europa.eu/environment/chemicals/lab_animals/pdf/Consensus_document.pdf) (consulté le 21/07/2020).

« expérimentation animale » et « méthodes alternatives » sont ainsi naturellement associées et reviennent régulièrement tout en étant opposées comme le sont les deux faces d'une pièce de monnaie.

Par ailleurs, si l'on se penche sur le sens du mot « alternative », il nous vient à l'esprit le mot « autre ». Une méthode alternative peut être considérée comme une « méthode autre », c'est-à-dire une méthode qui n'utilise pas d'animaux vivants – et donc sensibles – pour atteindre l'objectif scientifique fixé. Dans l'esprit du grand public et dans l'esprit du législateur, une méthode alternative se rapproche ainsi du mot « substitutive » et permettra peut-être un jour, en tout cas dès que possible sur un plan scientifique, le remplacement total<sup>2</sup>.

En tout état de cause, si dans la société civile « expérimentation animale » et « méthodes alternatives » sont perçues comme opposées, il n'en est pas de même chez les professionnels qui les considèrent comme complémentaires dans leur démarche scientifique.

### **Peut-on faire de la recherche et comprendre le fonctionnement global du vivant sans expérimentation animale ?**

La recherche, qu'elle soit fondamentale ou appliquée, correspond à une partie des utilisations d'animaux à des fins scientifiques, environ 65 %. Faire de la recherche et comprendre le fonctionnement global du vivant sans expérimentation animale est un souhait de tous, mais force est de constater que ce souhait est encore, dix ans après la publication de la directive 2010/63/UE, bien loin d'être réalisé. La question posée se réfère au remplacement « total ». Ce terme pourrait laisser entrevoir la possibilité de ne plus utiliser d'animaux du tout, mais, en réalité, il n'en est rien. En 2010, le législateur européen considérait que l'expérimentation « demeurait nécessaire pour protéger la santé humaine et animale et l'environnement ». Ce constat n'a pas été remis en cause en 2017 lors du réexamen de la directive et il est fort probable qu'il ne le sera toujours pas dans un futur proche.

Les scientifiques ont recours à l'utilisation d'animaux vivants quand ils ne peuvent faire autrement. Dans les travaux de recherche qui s'y prêtent, ils ont fait appel aux méthodes alternatives avant d'arriver à l'approche animale. Ils ont décortiqué des mécanismes moléculaires précis grâce à la biologie moléculaire et à la biologie cellulaire, l'expression d'un gène pouvant être analysée finement dans des cultures de cellules. L'étape « animale » leur permet ensuite de valider les hypothèses dans un contexte intégré, beaucoup plus proche de la situation naturelle d'un organisme entier. Un organe associant des cellules épithéliales et des cellules conjonctives peut tout à fait être « fabriqué » *in vitro*, mais sans les tissus sous-jacents la réalité biologique de tels systèmes est-elle fidèle à la situation naturelle ? Qu'en est-il des signaux délivrés par ces tissus complexes, difficiles à reproduire *ex vivo*, transmis par les nerfs ou par les capillaires sanguins comme les signaux endocriniens (hormones) ou immunologiques (cytokines) et qui communiquent avec les cellules épithéliales et conjonctives pour orchestrer la vie de manière coordonnée

<sup>2</sup> Cette notion est évoquée dans le considérant 10 de la directive 2010/63/UE.

et sensée? La biologie cellulaire a ses limites, et une approche physiologique à l'échelle plus large des systèmes, de l'organisme et de la vie est indispensable pour valider des mécanismes analysés de manière simplifiée à l'échelle cellulaire ou moléculaire.

### **Sa place actuelle dans le développement des médicaments et dans l'évaluation des dangers des produits chimiques est mise en question, que faut-il penser et comment les nouvelles technologies permettent de la réduire voire de la remplacer?**

Hormis à des fins de recherche, les animaux sont impliqués pour la mise au point, la production ou les essais de qualité et d'innocuité de médicaments ou d'aliments : cela correspond à 30 % des utilisations. Si l'on prend l'exemple du développement de médicaments pour protéger la santé humaine ou animale, le processus d'autorisation de mise sur le marché est très cadré réglementairement. L'approche qui utilise des animaux est obligatoirement mise en œuvre pour la phase de recherche préclinique du développement des médicaments pour l'homme ou les animaux, la phase clinique ne relevant pas de la réglementation de 2010. Les tests d'innocuité font appel à un certain nombre de méthodes « alternatives », mais, malheureusement, peu de méthodes – une vingtaine – sont validées au niveau européen. Des efforts sont toutefois réalisés pour développer de nouveaux outils extrêmement prometteurs pour l'avenir : les organoïdes avec la possibilité de mettre en culture des cellules et de reconstituer des mini-organes humains (par exemple un mini-cerveau ou un mini-foie, même s'ils sont très simplifiés par rapport à la situation naturelle) et la microfluidique qui contribue à mettre en relation plusieurs mini-organes simples, de façon à reproduire des systèmes (ex : foie-intestin-pancréas).

Mais avant de reproduire en dehors d'un organisme la richesse des systèmes physiologiques, il reste du chemin à parcourir dans les découvertes, espérons que les progrès seront les plus rapides possibles, pour que cette biologie, cette science de la vie, puisse dans tous les domaines s'appuyer sur de nouveaux modèles.

*Virginie Vallet*

*Maître de conférences en biologie cellulaire à l'université de Rennes 1*

## **Références**

Directive 2010/63/UE du Parlement européen et du Conseil du 22 septembre 2010 relative à la protection des animaux utilisés à des fins scientifiques. *Journal officiel de l'Union européenne*, L 276/33, 20 octobre 2010.

National Competent Authorities for the implementation of Directive 2010/63/EU on the protection of animals used for scientific purposes, Working document on specific articles in Directive 2010/63. Brussels, 6-7 October 2011, 12 p., [en ligne], <[https://ec.europa.eu/environment/chemicals/lab\\_animals/pdf/Consensus\\_document.pdf](https://ec.europa.eu/environment/chemicals/lab_animals/pdf/Consensus_document.pdf)> (consulté le 21/07/2020).

Russell W.M.S., Burch R.L., 1959. *The Principle of Human Experimental Technique*, Wheathampstead, Universities Federation of Animal Welfare, 229 p.



# Introduction

## L'émergence du concept 3R et des méthodes alternatives

---

Jean-Pierre Clot, Francelyne Marano

L'émergence des méthodes alternatives et du concept des 3R s'est faite dans la seconde moitié du xx<sup>e</sup> siècle. Celle-ci s'est produite grâce à la prise de conscience par les scientifiques des limites de l'expérimentation animale et de la nécessité d'y introduire une dimension éthique. Parallèlement, grâce aux avancées de la génétique, de la biologie cellulaire et des biotechnologies, il est devenu possible de reconstituer en culture des tissus et des organes, en particulier d'origine humaine. La bio-informatique a permis de modéliser certaines fonctions physiologiques normales ou pathologiques, de prévoir leur perturbation par des facteurs environnementaux, d'étudier les effets de médicaments grâce au traitement d'une grande quantité de données. Tous ces facteurs associés ont joué un rôle essentiel dans la diminution de l'utilisation expérimentale des animaux au cours des vingt dernières années. Actuellement, les méthodes alternatives continuent d'évoluer grâce aux avancées des recherches fondamentales sur les cellules souches, le développement des organoïdes et les applications modernes de l'imagerie du petit animal.

### **Éthique et expérimentation animale**

Depuis longtemps l'homme s'est servi de l'animal pour tenter de connaître les secrets de la vie. Mais ses rapports avec l'animal ont peu à peu évolué, passant de l'animal-objet à l'animal comme être doué de sensibilité et digne de respect. Cette évolution s'est traduite dans la façon dont les expérimentateurs ont conçu leurs travaux : l'expérimentation animale est-elle indispensable pour répondre à un questionnement scientifique permettant une avancée importante et utile à la société au risque d'entraîner une dégradation du bien-être de l'animal ? Elle a eu aussi pour conséquence la mise en place progressive d'un encadrement réglementaire très strict.

### **Évolution du concept d'expérimentation animale : rappels historiques**

D'abord par simple curiosité sur le fonctionnement du corps humain, puis en analysant les effets de certaines maladies, l'homme a pu en découvrir les causes et

trouver des remèdes. Toute cette démarche s'est appuyée au cours des siècles sur des études et des expérimentations principalement faites sur l'animal (Maurin-Blanchet, 2007).

Durant l'Antiquité, les connaissances étaient fondées sur l'observation et la dissection anatomique. La vivisection est peu pratiquée en Occident jusqu'à la Renaissance. Elle débute vraiment à partir du XVII<sup>e</sup> siècle en Angleterre avec William Harvey, qui met en évidence la circulation du sang en 1628. Le but des expérimentations à cette époque est de connaître le rôle des organes identifiés lors des dissections. Elle se développe au XVIII<sup>e</sup> siècle, passant de l'étude des organes à celle des tissus. Mais c'est vraiment le XIX<sup>e</sup> siècle qui va voir l'essor de l'expérimentation animale telle qu'on peut la concevoir encore actuellement. Plusieurs savants tels que Louis Pasteur ou Claude Bernard, en France, affirment que leur devoir de mieux comprendre la physiologie humaine et les maladies prévaut sur le droit de l'animal. Ils réalisent donc beaucoup d'expérimentations sur les animaux avec des avancées très importantes dans l'étude des pathologies, la mise au point de vaccins et la physiologie.

C'est sur l'œuvre de Claude Bernard, auteur de *l'Introduction à l'étude de la médecine expérimentale*, que se fonde la position traditionnelle des chercheurs dans le domaine de l'expérimentation animale (Bernard, 1865). Du point de vue moral, son opinion est claire : « A-t-on le droit de faire des expériences sur les animaux ? Quant à moi, je pense qu'on a ce droit d'une manière entière et absolue. » Pour lui, ces expériences étaient une façon d'éviter une expérimentation dangereuse sur l'homme : « Je n'admets pas qu'il soit moral d'essayer sur les malades dans les hôpitaux des remèdes plus ou moins dangereux ou actifs, sans qu'on les ait préalablement expérimentés sur des animaux. » Pour lui, il est donc « essentiellement moral de faire sur un animal des expériences quoique douloureuses et dangereuses pour lui, dès qu'elles peuvent être utiles pour l'homme ». Enfin, il ajoute pour justifier sa démarche : « Ce que l'on obtient chez les animaux peut être concluant pour l'homme quand on sait bien expérimenter » (Bernard, p. 178, 1865).

Pourtant, c'est également à cette époque que Charles Darwin (1859) publie ses travaux sur l'origine des espèces qui montrent que le règne animal est un continuum, ce qui remet en cause la distinction entre l'homme et l'animal. Cependant, il ne s'oppose pas à l'expérimentation animale dès lors que l'on utilise l'anesthésie, et il déclare que ne pas l'utiliser peut être considéré comme un « crime contre l'humanité ». Au même moment en Europe, des mouvements protestataires avaient commencé à s'opposer à toute exploitation des animaux, y compris à des fins scientifiques ou médicales. C'est ainsi que la première société pour la prévention de la cruauté envers les animaux est fondée à Londres en 1824. En 1845, est créée en France la Société protectrice des animaux (SPA) qui sera reconnue d'utilité publique en 1860. L'adoption en 1871 par la British Association for the Advancement of Science de certains principes fondamentaux de l'expérimentation animale a mené, par l'intermédiaire d'une commission royale, à la loi de 1876 sur la « cruauté envers les animaux ». Ce texte impose aux expérimentateurs de poursuivre un but utile, de n'opérer que sous anesthésie, de tuer rapidement l'animal ou encore de renoncer aux vivisections pédagogiques. Notons que cette loi britannique n'a été modifiée qu'en 1986 !



En 1882, la veuve et les filles de Claude Bernard lancèrent la Ligue populaire contre la vivisection dont Victor Hugo accepta la présidence en 1883; il déclara dans son discours inaugural : « La vivisection est un crime ! » Mais aucune réglementation claire n'est votée. En Allemagne, le décret Van Gossler (1885) reprend les grandes lignes de la loi britannique de 1876 en établissant des mesures de protection animale modérées qui n'interdisent pas l'expérimentation animale, mais la limitent aux nécessités scientifiques.

En France, la première loi de protection animale dite « loi Gramont » date de juillet 1850. Elle punit de « cinq jours de prison et d'une amende pour qui aura exercé publiquement et abusivement des mauvais traitements envers les animaux domestiques ». Cette « protection » de l'animal s'exerce donc uniquement au nom de la morale publique. Il faudra en fait attendre la seconde moitié du xx<sup>e</sup> siècle pour voir émerger un encadrement réglementaire strict de l'expérimentation animale basé sur la fameuse règle des 3R.

### La règle des 3R

La première moitié du xx<sup>e</sup> siècle voit l'essor des sciences biologiques (Maurin-Blanchet, 2007) avec une augmentation considérable du recours à l'animal. Dans ce contexte, la communauté des chercheurs et le grand public se sont de plus en plus préoccupés de la douleur ou de la détresse que peuvent ressentir les animaux utilisés à des fins scientifiques. C'est ce qui a poussé deux chercheurs britanniques, William Russell et Rex Burch (1959), à étudier de quelle façon les expérimentateurs devaient concevoir leurs projets et pratiquer leurs expérimentations afin de préserver autant que possible le bien-être des animaux. L'ensemble de leur réflexion a fait l'objet d'un livre publié en 1959 et intitulé *The Principles of Humane Experimental Technique*. Dans cet ouvrage, les auteurs développent les concepts d'« inhumanité » et d'« humanité » ; l'« humanité » étant définie comme l'absence d'inhumanité. Ils caractérisent l'« inhumanité » en décrivant plusieurs états mentaux déplaisants qui peuvent être ressentis par les animaux : l'angoisse, l'anxiété, le stress, la douleur, la peur, etc. Un traitement « humain » des animaux cherchera à supprimer ou à minimiser les conditions qui affectent leur bien-être. Mais pour Russell et Burch ceci ne doit pas compromettre les objectifs de progrès médicaux et scientifiques. Le point essentiel est de déterminer ce qui n'est pas humain et comment l'humanité peut être promue sans nuire aux objectifs d'une expérience scientifiquement valable (Tannenbaum et Bennett, 2015).

Dans ce but, les auteurs proposent le principe ou concept des 3R qui signifient « *replacement, reduction, refinement* ». Ce sont les trois éléments que doivent successivement examiner les chercheurs lorsqu'ils envisagent d'avoir recours à l'animal pour répondre à leur questionnement scientifique. Il s'agit tout d'abord du « remplacement » qui sous-entend que le recours à l'animal vivant doit être justifié et indispensable. Il est ensuite question de la « réduction » qui consiste à utiliser un nombre minimal d'animaux, nécessaire et suffisant, pour atteindre l'objectif proposé. Enfin arrive la notion de « raffinement », traduction approximative du terme anglais « *refinement* », qui désigne plutôt la notion de minimiser la contrainte et la souffrance tout en optimisant les conditions d'utilisation des animaux.

Le « remplacement » désigne les méthodes qui permettent d'éviter ou de remplacer l'utilisation d'animaux à des fins scientifiques. Le remplacement peut être complet, c'est-à-dire utilisant des modèles autres que des animaux de laboratoire classiques, surtout les rongeurs (modèles cellulaires, informatiques, etc.). Le remplacement peut être relatif; dans ce dernier cas, on remplacera un animal dont la sensibilité est élevée par un animal dont le potentiel de perception de la douleur est moins élevé, comme par exemple la plupart des invertébrés. Ainsi, plusieurs espèces ont largement été utilisées comme le nématode *Caenorhabditis elegans*, la levure *Saccharomyces cerevisiae* ou encore l'arthropode *Drosophila melanogaster*. Parmi les vertébrés, on peut également citer l'embryon de poisson-zèbre *Danio rerio*. Dans le domaine du remplacement, les progrès scientifiques sont progressifs et vont demander beaucoup de temps et d'effort avant que le but ultime de n'employer aucun animal vivant en expérimentation ne soit atteint. Dans ce contexte, la réduction est le mode de progrès le plus évident et le plus efficace.

La « réduction » qualifie toutes les méthodes qui facilitent la diminution du nombre d'animaux utilisés tout en obtenant suffisamment de données pour répondre aux questions liées à l'étude. Ainsi, la première démarche, qui n'est pas en soi de la réduction, est de calculer très précisément le nombre d'animaux qui vont être utilisés dans un projet en tenant compte de la variabilité du critère mesuré et de l'écart escompté entre témoins et traités. Il faudra contrôler la variabilité de la réponse et la précision de sa mesure. En effet, le contrôle des paramètres environnementaux, sanitaires et génétiques sera un facteur de diminution de la variabilité de la réponse mesurée et donc de réduction. Pour réduire encore plus, on peut choisir les témoins de sorte à accentuer l'effet d'un traitement ou encore utiliser des tests unilatéraux plutôt que bilatéraux pour évaluer un effet positif. Enfin, il ne faut pas oublier les mesures de stockage des organes ou tissus normaux ou d'intérêt dans une banque de tissus ou de fluides. Ce type de banque est en effet un facteur de réduction future dans la mesure où elle permet d'éviter de mettre à mort des animaux aux fins de récupération d'organes ou de tissus.

Le « raffinement » a pour but de réduire, supprimer ou soulager l'inconfort, la douleur, la détresse ou l'angoisse subis par les animaux, mais aussi d'obtenir plus d'informations pertinentes à moindre coût en termes de « mal-être » animal. Ainsi, il faut améliorer les conditions de transport, d'élevage et d'hébergement dans le but de favoriser le bien-être. Il convient aussi de pratiquer systématiquement une anesthésie et une analgésie quand on estime que la procédure utilisée risque d'être douloureuse et quand cela est possible. Il vaut mieux aussi étudier des situations aiguës plutôt que chroniques, des pathologies spontanées plutôt que provoquées. Il convient d'utiliser de préférence des procédures non invasives comme l'imagerie, la télémétrie, etc. Il faut aussi déterminer des points limites les plus précoces possibles en fonction de l'objectif poursuivi. Ceci nécessite d'évaluer précisément la balance entre coût pour les animaux en termes de dégradation du bien-être et bénéfice pour la société des résultats attendus de l'expérimentation. Toutes ces méthodologies doivent être prises en compte lors de la conception des projets et vont rendre possible une amélioration de la qualité et de la pertinence des résultats obtenus pour une meilleure transposition à l'homme.

## Les mouvements de protection des animaux

Au cours du  $xx^e$  siècle, parallèlement à la prise de conscience des expérimentateurs qu'il fallait développer une recherche responsable prenant en compte la sensibilité des animaux et le respect qui leur est dû, de nombreuses associations, sociétés ou mouvements se sont créés afin de les protéger. Il y a tout d'abord des associations généralistes parmi lesquelles on peut citer : la confédération nationale des SPA de France (1926), la Fondation droit, animal, éthique et science créée le 25 août 1977 sous le nom « Ligue française des droits de l'animal » (LFDA), Recherche expérimentale et protection de l'animal de laboratoire (Opal) (1968), le Conseil national de la protection animale (1<sup>er</sup> mars 1975) ou encore Pour l'Alternative à l'expérimentation animale (décembre 1988). Celles-ci ont un discours ouvert, à l'écoute des scientifiques, et sont conscientes de la nécessité encore à l'heure actuelle de l'expérimentation animale. Elles participent à des instances officielles comme la Commission nationale de l'expérimentation animale (Cnea) ou encore le Comité national de réflexion éthique en expérimentation animale (CNREEA) et peuvent ainsi peser dans l'évolution de la réglementation.

D'autres associations comme la Ligue antivivisectionniste de France (1956), Pro anima (1989), One Voice (1995) ou encore Antidote Europe : comité scientifique pour une science responsable (2004) ont un discours beaucoup plus fermé et en opposition absolue à toute expérimentation sur les animaux. Elles développent une communication très active dans les médias et les réseaux sociaux et encouragent des actions violentes. Leurs arguments sont bien connus. En voici quelques-uns : aucune expérience animale avec un médicament, même si elle est effectuée sur plusieurs espèces animales incluant des primates, ne peut donner aucune garantie que le médicament agira de la même façon chez l'homme. Chaque espèce a sa physiologie particulière. Ou encore : il n'existe aucune base logique pour transposer à l'homme les résultats obtenus chez l'animal.

Il est relativement facile de réfuter ces arguments sur le plan scientifique, mais convaincre le public est beaucoup plus difficile. Un autre de leurs arguments, *a priori* beaucoup plus pertinent, est qu'il existe des méthodes « alternatives » fiables qui nous permettraient de ne plus avoir à pratiquer d'expérimentations sur l'animal. Il est vrai que beaucoup de progrès ont été réalisés ces dernières années ; ils sont illustrés dans cet ouvrage. D'ailleurs, dans le domaine des cosmétiques, des modèles non animaux ont été développés et les essais sur les animaux sont interdits depuis 2013 dans l'Union européenne, mais encore pratiqués ailleurs dans une majorité de pays. Il reste illusoire de faire croire que dès à présent nous disposerions de tous les outils nous permettant de continuer à améliorer la santé humaine et à préserver notre sécurité sans utiliser l'animal. Toutefois, nous devons tout mettre en œuvre pour que cet objectif se réalise dans un avenir proche comme la réglementation actuelle le préconise et l'imposera à terme.

## L'évolution de la réglementation

La règle des 3R a reçu un large consensus en Amérique du Nord et en Europe. Elle a été rapidement adoptée par plusieurs institutions comme le Conseil canadien de

protection des animaux, le département américain de l'Agriculture, et a été à la base de la réglementation européenne.

En France, la loi de novembre 1963 constitue la première mise en place d'une réglementation spécifique concernant les recherches scientifiques conduites sur des animaux, pour lesquelles il faut montrer la nécessité d'utiliser des animaux et en minimiser le nombre. Par la suite, la loi du 10 juillet 1976 pour la protection de la nature introduit les devoirs de l'homme envers l'animal en droit français. L'animal y est défini comme un être sensible, c'est-à-dire un être vivant et digne de respect. À ce titre, il convient d'assurer sa protection à l'égard de son milieu comme des agressions directes ou indirectes liées à l'action de l'homme.

En 1985, la convention STE 123 du Conseil de l'Europe vise à réduire le nombre d'expériences et le nombre d'animaux utilisés à de telles fins. Elle encourage les parties à n'avoir recours à ces expériences que dans la mesure où on ne peut utiliser d'autres méthodes. Toute recherche visant à développer des méthodes alternatives doit être encouragée. Cette convention a servi de base à la directive 86-609 qui définit comme licites les expériences ou recherches pratiquées sur des animaux vivants à condition, d'une part, qu'elles revêtent un caractère de nécessité et, d'autre part, que ne puissent utilement y être substituées d'autres méthodes expérimentales. Enfin, la directive 2010/63 stipule dans son considérant n° 10 :

S'il est souhaitable de remplacer l'utilisation d'animaux vivants dans les procédures par d'autres méthodes qui n'impliquent pas leur utilisation, l'utilisation d'animaux vivants demeure nécessaire pour protéger la santé humaine et animale ainsi que l'environnement.

Cependant, cette directive représente une étape importante vers la réalisation de l'objectif final que constitue le remplacement total des procédures appliquées à des animaux vivants à des fins scientifiques et éducatives, dès que ce sera possible sur un plan scientifique. Cette directive européenne a elle-même été transposée en droit français en 2013 (décret 2013-118 associé à cinq arrêtés d'application).

## Les comités d'éthique en expérimentation animale

Afin de mieux prendre en compte concrètement le concept des 3R, dix principes de l'éthique de l'expérimentation animale sont énoncés à Lyon en 1978 puis revus en 1979 au centre européen de la Tufts University à Talloires, à l'occasion du centenaire de la mort de Claude Bernard. Ce document reconnaît l'importance et l'obligation de progresser en matière de biologie et de médecine et que, dans cette quête, le recours à l'animal est nécessaire. Mais, il est du devoir de l'homme de respecter l'animal, être vivant, doué de sensibilité, de mémoire, qui est capable de souffrir sans pouvoir échapper à la douleur. L'objectif de ce groupe de travail était de mettre en place une structure qui s'intéresse exclusivement au bien-être de l'animal pour sensibiliser les expérimentateurs et les inciter à l'améliorer (Laroche et Rousselet, 1990). Ceci a été la base de toute réflexion sur les comités d'éthique.