



# Une recherche de qualité, moins d'expériences sur les animaux

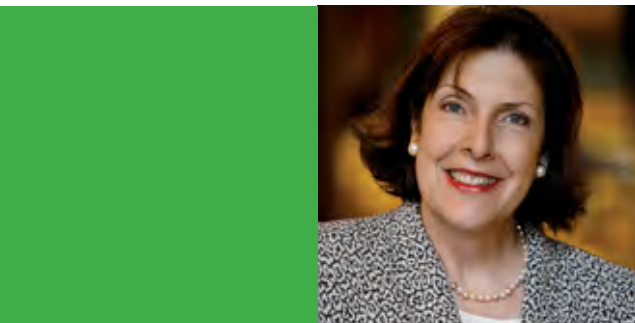


**Replace**

**Reduce**

**Refine**





## Au service de la science et des animaux

*On ne peut pas se passer entièrement de l'expérimentation animale. Bien que de grands efforts aient été mis en œuvre, certaines expériences sur animaux sont aujourd'hui encore indispensables. Il y a des questions de recherche qui ne peuvent pas être résolues autrement. Certaines expériences sur animaux sont prescrites par la loi, par exemple pour contrôler l'innocuité de produits chimiques.*

*C'est là que la Fondation Recherches 3R intervient: elle s'efforce, partout où cela est possible, de remplacer les expériences sur les animaux par d'autres méthodes (replaces), de réduire le nombre d'expériences sur les animaux (reduces), et de diminuer les contraintes pour les animaux de laboratoire dans le cadre de la détention et des expériences (refines). Ensemble, ces 3R ont une grande valeur pour la protection des animaux. Mais ils permettent aussi d'améliorer les résultats de la recherche. La Fondation poursuit les objectifs des 3R en apportant à la recherche un soutien financier en ce sens.*

*Depuis sa création il y a 20 ans, la Fondation démontre combien on peut mettre en mouvement en rassemblant autour d'une table des personnes que tout semble opposer pour qu'elles poursuivent des objectifs communs à l'aide de projets concrets: en effet, la Fondation rassemble de manière unique des représentants de l'industrie, des autorités, de la science et de la défense des animaux.*

*Son bilan est impressionnant: au cours des 20 dernières années, la Fondation a investi plus de 14 millions de francs pour soutenir plus de 100 projets de recherche. De nombreuses publications en ont découlé et témoignent de la créativité des chercheurs quand il s'agit d'améliorer la situation au niveau des expériences sur les animaux. Grâce à Internet, elles sont accessibles dans le monde entier.*

*Cependant, il reste encore fort à faire. C'est ce que montre par exemple le fait que le nombre d'expériences sur les animaux est à nouveau en augmentation alors qu'il avait diminué régulièrement pendant 20 ans. La Fondation Recherches 3R va donc continuer à encourager des travaux de recherche visant à remplacer les expériences sur les animaux et à réduire leur nombre ainsi que les contraintes pour les animaux. Au service de la protection des animaux et du progrès de la science.*

Christine Egerszegi-Obrist, conseillère nationale,  
vice-présidente de la Fondation Recherches 3R

<b>Introduction</b>	
4	Perspectives et défis
<b>Ethique</b>	
6	Un véritable dilemme
<b>Protection des animaux</b>	
7	Il reste fort à faire
<b>Tour d'horizon des 3R</b>	
8	Points forts de 20 ans de promotion de la recherche
<b>Replace</b>	
12	Limites des méthodes sans animaux
<b>Reduce</b>	
14	Aussi peu que possible, autant qu'il le faut
<b>Refine</b>	
16	Diminuer les contraintes pour les animaux
<b>Traitement de la douleur</b>	
18	Moins de douleur, expériences plus parlantes
<b>Animaux génétiquement modifiés</b>	
20	Etudes sur le vivant
<b>Expériences sur les primates</b>	
22	Une controverse éthique
<b>Méthodes informatiques</b>	
24	Plutôt la souris de l'ordinateur
<b>Méthodes non invasives</b>	
25	«Beaucoup moins d'animaux»
<b>L'idée des 3R dans la pratique</b>	
26	La mise en œuvre est décisive
<b>Formation professionnelle et perfectionnement</b>	
28	Un personnel bien formé fait de meilleures expériences animales
<b>Réseau international</b>	
30	La mondialisation des 3R
<b>20 ans de Fondation Recherches 3R</b>	
32	Un idéal et ses succès
<b>Plate-forme de dialogue 3R</b>	
34	Les autorités, les associations de défense des animaux, l'industrie et la science prennent la parole

# Perspectives et défis

Au cours des dernières décennies, le nombre d'animaux de laboratoire a diminué en Suisse de 80%. Le principe 3R (replace, reduce, refine) a largement contribué à ce succès. Cependant, il n'y a pas de raison de se contenter de ce résultat.

Pour la plupart des gens, l'expérimentation animale comporte un dilemme: d'un côté, de nombreuses personnes souhaitent que l'on effectue de la recherche fondamentale, que l'on élabore des médicaments efficaces et que l'on assure l'innocuité des produits chimiques. De l'autre côté, personne ne veut pour autant que des animaux aient peur, souffrent de stress ou de douleur. Des questions se posent donc: a-t-on vraiment besoin de tous ces animaux? Est-il possible de réaliser les expériences de manière à ce que les animaux ne soient pas stressés et ne souffrent pas? Peut-on éventuellement se passer complètement d'animaux? Telles sont justement les trois questions dont découle le principe 3R. La présente brochure expose ce principe et son application.

Entre 1983 et 2000, le nombre d'animaux de laboratoire est passé en Suisse d'environ 2 millions à un demi-million. Il s'agit d'une diminution de presque 80%. Le principe 3R a largement contribué à ce succès. Cependant, il n'y a pas de raison

de se contenter de ce résultat. En effet, depuis 2001, le nombre d'animaux de laboratoire est à nouveau légèrement à la hausse en Suisse et en Europe. Cette tendance est probablement due à l'augmentation des activités de recherche biomédicale dans les universités et dans l'industrie pharmaceutique, mais aussi à la plus grande sévérité des exigences de sécurité vis-à-vis des médicaments et des produits chimiques.

## Un idéal difficile à mettre en œuvre

Les experts estiment qu'il est encore possible de réduire le nombre d'animaux de laboratoire et surtout les contraintes pour les animaux dans les expériences, mais que cela est plus difficile que par le passé, car les solutions 3R les plus évidentes ont déjà été mises en œuvre. Un exemple: dans le secteur des contrôles de toxicité – tests destinés à vérifier si un produit est nocif ou non –, divers procédés permettant de renoncer aux expériences sur les animaux ont été élaborés et mis en œuvre en Europe au cours des dernières an-

nées. «Il est par conséquent aujourd'hui plus difficile que jamais de réaliser l'idéal d'un monde sans expérimentation animale ou tout au moins l'idéal d'expériences qui ne fassent pas souffrir les animaux», explique Hugo Wick, président de la Fondation Recherches 3R. «Raison de plus d'ancrer plus fortement l'idée des 3R dans la recherche fondamentale.»

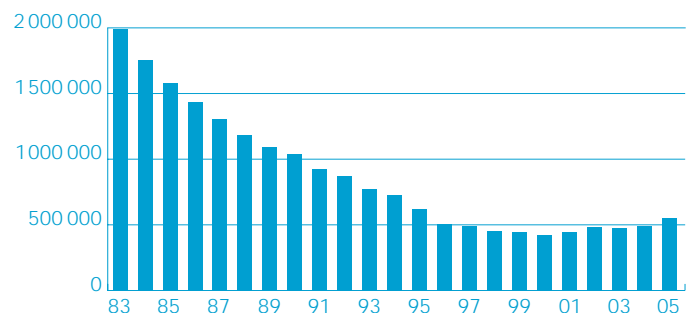
### Expérimentation animale: que dit la loi?

Est considérée comme expérience sur les animaux toute intervention au cours de laquelle des animaux vivants sont utilisés pour: (1) vérifier une hypothèse scientifique, (2) vérifier les effets d'une mesure déterminée sur l'animal, (3) tester une substance (à certaines exceptions près), (4) prélever ou examiner des cellules, des organes ou des liquides organiques, (5) obtenir ou reproduire des organismes étrangers à l'espèce, (6) l'enseignement, la formation ou la formation continue (art. 3, let. c, LPA). Toute personne qui entend effectuer des expériences sur les animaux doit être titulaire d'une autorisation de l'autorité cantonale compétente (art. 18, al. 1, LPA).

## Statistiques des expériences sur les animaux

En 2005, plus de 500 000 animaux ont été utilisés en Suisse pour des expériences. La majeure partie de ces expériences est en rapport avec la santé humaine, d'abord dans la recherche fondamentale (33% des animaux de laboratoire), puis dans la recherche sur les médicaments (52%). Avant qu'un nouveau produit ou médicament soit autorisé à la consommation, des contrôles de sécurité et de qualité sont prescrits par la loi (10%). Neuf animaux sur dix de laboratoire sont des rongeurs (souris et rats). Environ 4% sont soumis lors des expériences à des contraintes sévères (degré de gravité 3).

Expériences sur les animaux en Suisse  
(nombre d'animaux de 1983 à 2005)



Expériences sur les animaux soumises à autorisation





Il est encore possible de réduire le nombre d'animaux de laboratoire, mais cela est plus difficile que par le passé. Raison de plus d'ancrer l'idée des 3R dans la recherche fondamentale.

Les pionniers du principe des 3R: William Russell et Rex Burch



## Le principe des 3R

Ce que les chercheurs britanniques William Russell et Rex Burch disaient en 1959 des expériences sur les animaux nous semble aujourd'hui élémentaire. Mais à l'époque, ils faisaient figure de pionniers. Ils souhaitaient un rapport sans cruauté entre l'homme et l'animal. «Une science sans cruauté est une bonne science et le meilleur moyen d'atteindre ce but est l'application rigoureuse des 3R», disait Rex Burch. C'est sur cette base que Russell et Burch développèrent le concept des 3R (replace, reduce, refine).

Ce concept décrit de manière brève et précise ce qu'il convient de prendre en compte lors de la planification d'une expérience sur des animaux. Le principe «replace» (remplacement) exige des chercheurs et des autorités qui délivrent l'autorisation de réfléchir à l'utilité de l'expérience. Ils doivent démontrer que l'expérience est vraiment nécessaire et ne peut pas être remplacée par une autre méthode n'utilisant pas d'animaux.

Si l'expérience est nécessaire et indispensable au sens de la loi sur la protection des animaux, le deuxième principe «reduce» (réduction) exige d'utiliser aussi peu d'animaux que possible. Enfin, le troisième principe, «refine» (raffinement, réforme) exige de soumettre les animaux utilisés pour l'expérience à aussi peu de contraintes que possible.

Un certain temps s'est écoulé avant que le principe des 3R soit appliqué largement. Les mentalités ont évolué vers la fin des années 70, entre autres sous la pression des associations de protection des animaux. Aujourd'hui encore, l'idée des 3R ne va pas de soi dans tous les pays développés, mais elle est largement répandue.

# Un véritable dilemme

**Au fond, tout le monde est contre l'expérimentation animale. Mais en même temps, chacun souhaite des médicaments fiables et des produits chimiques inoffensifs – impossible sans expérimentation animale. Comment gérer ce dilemme?**

Vis-à-vis de l'expérimentation animale, on peut prendre une position catégorique ou pragmatique. Les défenseurs radicaux des animaux refusent catégoriquement les expériences sur les animaux, parce qu'ils considèrent ceux-ci comme des créatures ayant les mêmes droits que les humains. Le point de vue pragmatique en revanche met le bien-être de l'homme au-dessus de la souffrance animale, de sorte que les expériences sur les animaux peuvent être légitimes. Cette deuxième approche est aujourd'hui ancrée dans la loi. Une personne qui dirige des expériences sur les animaux est cependant toujours tenue de peser les intérêts avant chaque expérience en mettant en balance la souffrance des animaux et les bénéfices escomptés en termes de connaissances. Si cette personne aboutit dans cette analyse à la conclusion que le bénéfice l'emporte, elle peut alors justifier l'expérience. Le bénéfice escompté doit être d'autant plus grand que la contrainte à laquelle l'animal est

soumis est grande et que le nombre d'animaux nécessaires à une expérience est important. En Suisse, il n'y a donc par exemple pas d'expérimentation animale en rapport avec les produits cosmétiques. En effet, les rouges à lèvres et autres produits de beauté sont des produits de luxe dont l'utilisation n'apporte pas de bénéfice essentiel. L'évaluation est plus difficile dans le domaine de la recherche fondamentale, car la nature de celle-ci est telle que les chercheurs ne peuvent pas garantir à l'avance un bénéfice en termes de connaissances. Mais le progrès médical dépend encore aujourd'hui bien souvent d'expériences sur les animaux – même s'il y a eu de grands progrès dans la recherche sur les méthodes de substitution. Par conséquent, l'objectif doit être de limiter autant que possible les souffrances de chaque animal utilisé dans une expérience et de réduire autant que possible le nombre d'animaux utilisés. Le droit que s'accorde l'homme d'utiliser les animaux est lié

au devoir de ne le faire qu'après avoir soupesé le pour et le contre et dans des cas individuels justifiés.

Ces principes éthiques ne sont pas valables dans tous les pays du monde. En effet, la conception que l'homme a de l'animal est influencée par la culture, la religion et l'éducation.

## Garde-fous éthiques

Certaines organisations, hautes écoles et entreprises de l'industrie pharmaceutique soumettent leurs collaborateurs à des directives d'éthique pour l'exécution d'expériences sur animaux. Des directives d'éthique ont entre autres été élaborées par les Académies suisses des sciences. Celles-ci mentionnent explicitement le principe des 3R. En outre, diverses commissions se penchent sur ce sujet, par exemple la Commission fédérale d'éthique pour la biotechnologie dans le domaine non humain (CENH).

www.samw.ch

## Un cas d'ambivalence éthique

L'expérimentation animale nous oblige à nous demander quel est notre rapport en tant qu'êtres humains vis-à-vis des animaux. Dès l'Antiquité, les philosophes n'étaient pas unanimes sur le statut de l'animal: certains soulignaient l'intelligence des animaux, tandis que d'autres, tels que Sénèque croyaient que l'homme était unique en son genre et donc supérieur à l'animal. Plus tard, certains philosophes considéraient les animaux comme de simples machines, ce qui agrandit le fossé, entre l'homme et l'animal.

Aujourd'hui encore, un chercheur qui réalise des expériences sur les animaux est confronté à cette contradiction. Mais il n'est pas livré à lui-même lorsqu'il s'agit de déterminer si une expérience sur animaux est éthiquement défendable ou non: le cadre légal suisse est l'un des plus sévères au monde et se base sur la philosophie des 3R. Cette philosophie est nécessaire. Mais il ne faut pas s'abandonner à l'illusion que l'expérimentation animale sera un jour superflue grâce aux 3R. En effet, même la science ne pourra jamais éliminer l'ambivalence éthique inhérente à l'expérimentation animale.

Alexandre Mauron, Université de Genève



**«Il ne faut pas s'abandonner à l'illusion que la réduction des expériences sur les animaux les rendent un jour superflues.»**

# Il reste fort à faire

Au cours des dernières décennies, il y a eu des progrès dans la protection des animaux. Cependant, il reste fort à faire. En particulier au niveau de la détention et de la mise en œuvre pratique des méthodes 3R, un potentiel d'amélioration subsiste.

De nombreuses organisations de protection des animaux reconnaissent qu'en Suisse, la situation des animaux de laboratoire s'est améliorée au cours des 20 dernières années. Mais elles sont également convaincues que ce n'est pas suffisant. Dans de nombreux domaines, par exemple la détention des animaux, des améliorations sont encore possibles et nécessaires: le type de détention est dans la plupart des cas une contrainte plus importante pour l'animal de laboratoire que

l'expérience proprement dite. Si la détention est inappropriée, le comportement de l'animal peut s'en trouver perturbé et son système immunitaire peut se modifier.

## Détention axée sur les besoins des animaux

Les associations suisses de protection des animaux revendiquent par conséquent une détention des animaux de laboratoire axée autant que possible sur les besoins naturels des animaux ce qui

exige de la part des responsables une connaissance exacte des besoins de l'espèce animale en question et une grande sensibilité. Pour les espèces sociales par exemple, il est important de veiller à une détention en groupe et de vérifier régulièrement si le groupe fonctionne bien. Pour les grands animaux, il faut de l'espace et des possibilités de mouvement. Il faut aussi veiller à ce que le climat ambiant soit bon: éclairage, température, humidité de l'air, bruit.

## Méthodes de substitution à l'expérimentation animale: où en sommes-nous?

Au bout de 20 ans de Fondation Recherches 3R, il est temps de faire le bilan: plus de la moitié des projets soutenus pendant cette période étaient de nature à réduire le nombre d'animaux utilisés. A quelques exceptions près, ces projets étaient du do-



**«Fort heureusement, des approches expérimentales novatrices, de nature à remplacer à long terme les expériences sur les animaux, ont souvent été encouragées.»**

maine de la recherche fondamentale. Pourtant, le nombre d'animaux utilisés dans la recherche fondamentale augmente. La Fondation fait-elle fausse route? Ou le nombre d'animaux aurait-il augmenté encore bien davantage sans les projets de la Fondation Recherches 3R? Nous ne pouvons que faire des suppositions. Faut-il encourager de manière ciblée des projets dans les secteurs qui sont responsables de l'augmentation du nombre d'animaux de laboratoire? Ou la Fondation doit-elle surtout encourager la réflexion? Par exemple la réflexion sur le fait que toutes les souris génétiquement modifiées du monde ne

permettent pas de créer des modèles de maladie humaine valables, parce que les gènes de l'homme et de la souris ne contiennent pas forcément les mêmes informations. Et parce qu'il s'agit là d'une réduction inacceptable au contexte génétique, qui néglige l'effet des facteurs psychiques, de l'environnement et de l'alimentation.

Fort heureusement, des approches expérimentales novatrices, de nature à remplacer à long terme les expériences sur les animaux, ont souvent été encouragées. Mais bien souvent, la mise en œuvre n'est pas parfaite. La Fondation a par exemple soutenu activement les connaissances sur la production d'anticorps recombinants sans utilisation d'animaux. Ce problème est résolu du point de vue scientifique. Mais dans les laboratoires, on continue à immuniser des lapins, la méthode n'est pas appliquée.

Franz Gruber, Université de Constance/revue ALTEX

# Points forts de 20 ans de promotion de la recherche

Depuis sa création en 1987, la Fondation Recherches 3R a soutenu plus de 100 projets de recherche. Ces projets avaient pour but d'élaborer des méthodes permettant d'utiliser moins d'animaux de laboratoire ou de s'en passer complètement et d'améliorer la détention des animaux de laboratoire. De nombreux projets ont été couronnés de succès. De nombreux chercheurs et chercheuses se

sont engagés dans ce but, quelques-uns d'entre eux sont présentés en bas de cette page. Sur les pages suivantes, neuf projets soutenus par la Fondation Recherches 3R et couronnés de succès sont présentés. Les projets vont de la recherche de gènes de la douleur à l'élaboration de membranes permettant de nourrir des tiques au lieu de placer celles-ci sur des animaux hôtes.

Des informations détaillées sur ces projets et sur tous les autres projets soutenus par la Fondation sont disponibles sous [www.forschung3R.ch](http://www.forschung3R.ch) (Liste des projets).



A partir de gauche:  
Felix Wolf, Cornell University (Etats-Unis), Paolo Cinelli, Université de Zurich, Paul Flecknell, Newcastle University (Royaume-Uni), Hanno Würbel, Université Justus Liebig de Giessen (Allemagne)

A partir de gauche:  
Eva Waiblinger, Protection suisse des animaux, Bâle, Andrew Hemphill, Université de Berne, Peter Brügger, Novartis Pharma SA, Bâle, Paul Honegger, Université de Lausanne

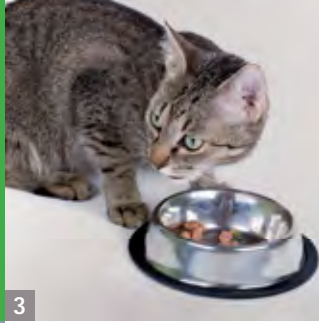
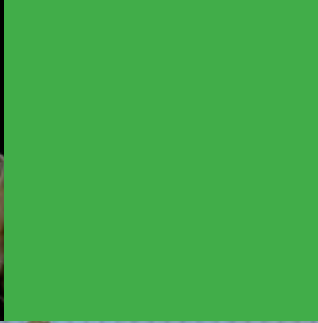
A partir de gauche:  
R. Geoff Richards, Fondation AO Davos, Marianne Geiser Kamber, Université de Berne, Nicolau Beckmann, Université de Bâle/Novartis Pharma SA, Thomas Kröber, Université de Neuchâtel



Amélioration du box. Si le box contient autre chose que de la litière, les animaux sont mieux occupés et développent moins de comportements stéréotypés.



1



3



2



3

**Reconnaître la douleur.** Chez certains animaux, il est difficile de savoir s'ils souffrent: les lapins par exemple dissimulent volontairement leur douleur (photo de gauche). Chez les chats, un pelage sale peut indiquer qu'ils souffrent (photo en haut).

Recherche de gènes de la douleur. A l'aide de puces géniques, les chercheurs ont étudié 130 gènes liés à la douleur et à la peur (photo de puces à ADN).

### 1 Petites modifications, impact important

De petites améliorations des conditions de détention des animaux peuvent diminuer ou même empêcher l'apparition de comportements stéréotypés, tels que le fait de ronger la grille. Il s'agit par exemple de «l'enrichissement» des cages par des possibilités pour les animaux de s'occuper et de se cacher, mais aussi de la prise en compte du comportement social des animaux. Chez les gerbilles de Mongolie par exemple, il ne faut pas séparer trop tôt les petits de leur famille. Les auteurs de l'étude se sont aperçu qu'il ne faut pas séparer les petits de leur famille avant que la mère ait donné naissance à la prochaine génération.

[www.forschung3r.ch](http://www.forschung3r.ch)  
Liste des projets: 58-97

### 2 Recherche des gènes de la douleur

Les chercheurs partent du principe que certains gènes augmentent ou réduisent leur activité dès qu'un organisme éprouve une douleur. Ils recherchent donc ces gènes dans le patrimoine héréditaire. La découverte et la description de tels gènes pourraient faciliter la reconnaissance et le traitement de la douleur chez les animaux de laboratoire: on pourrait administrer aux animaux des analgésiques au bon moment et à la bonne dose.

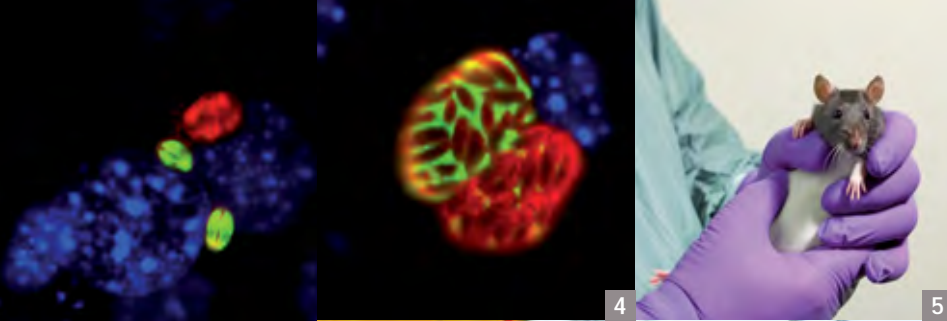
[www.forschung3r.ch](http://www.forschung3r.ch)  
Liste des projets: 96-05

### 3 Reconnaître la douleur chez l'animal

Le bien-être de l'animal de laboratoire est un but essentiel. Il est donc important de détecter rapidement la souffrance et la douleur. Seules des personnes bien formées et expérimentées en sont capables. Hélas, la formation des personnes qui vont diriger des expériences se heurte souvent au manque de bon matériel photographique. Un programme d'apprentissage accessible sur Internet a donc été élaboré. Ce programme permet d'apprendre quels comportements chez les animaux sont des indices de douleur ou de stress.

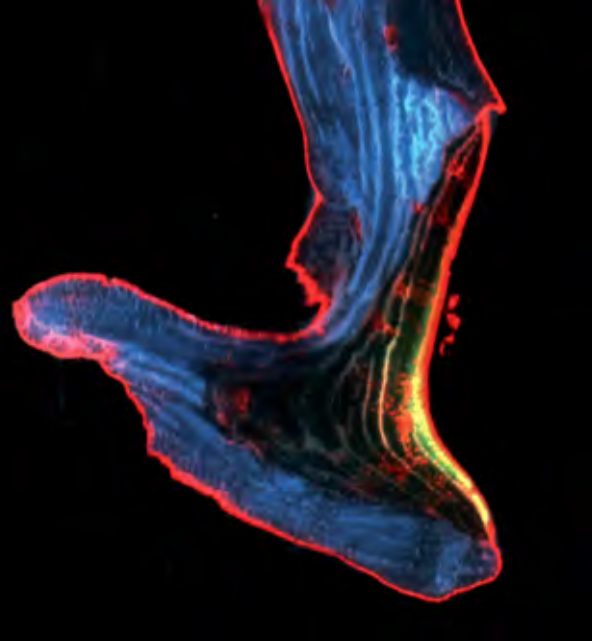
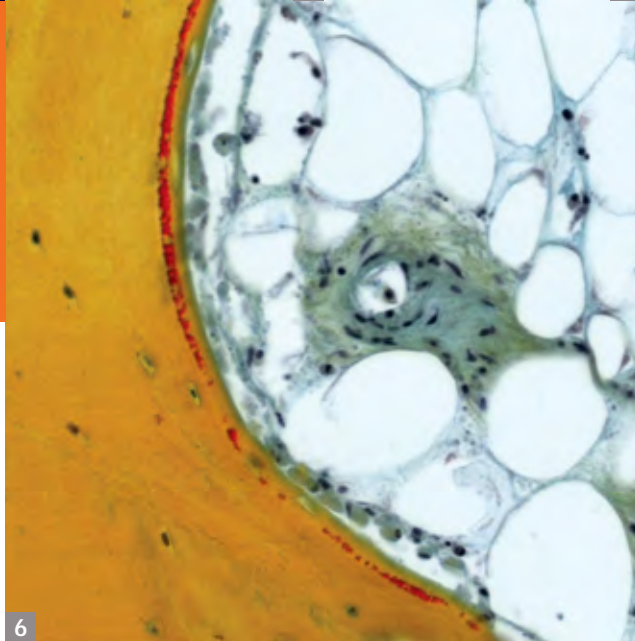
[www.ahwla.org.uk](http://www.ahwla.org.uk)  
<http://3r-training.tierversuch.ch>

[www.forschung3r.ch](http://www.forschung3r.ch)  
Liste des projets: 88-03, 71-00



Utilisation de cellules intestinales. Etude d'agents pathogènes d'épizooties sur la cellule plutôt que chez l'hôte intermédiaire chien ou chat (les parasites sont marqués en rouge) (4).

Technique au lieu de rongeurs. Lorsque les chercheurs travaillent avec des souris ou des rats, ils doivent d'abord tester si ceux-ci ne sont pas infectés par des virus. Autrefois, on réalisait bien souvent ces tests avec des souris. Aujourd'hui, on utilise un test appelé PCR (5).



Soulager les moutons. Les greffons sont testés, non sur le mouton vivant, mais sur des os provenant d'abattoirs.

#### 4 Cellules plutôt que chiens et chats

Les parasites *Neospora caninum* (dont l'hôte intermédiaire est le chien) et *Toxoplasma gondii* (dont l'hôte intermédiaire est le chat) causent des maladies chez l'homme et l'animal. Il faut étudier ces parasites pour élaborer des médicaments et des vaccins adéquats. Ces deux parasites ont un cycle de vie comportant trois phases. Des projets de recherche permettent de cultiver ces phases en partie sur des cultures cellulaires intestinales. Pour ces études, on peut ainsi largement éviter d'utiliser des chiens ou des chats en tant qu'hôtes intermédiaires. En outre, les chercheurs peuvent effectuer des tests préliminaires des médicaments contre ces maladies dans des cultures cellulaires.

[www.forschung3r.ch](http://www.forschung3r.ch)  
Liste des projets: 85-03, 72-00

#### 5 La biologie moléculaire remplace les rongeurs

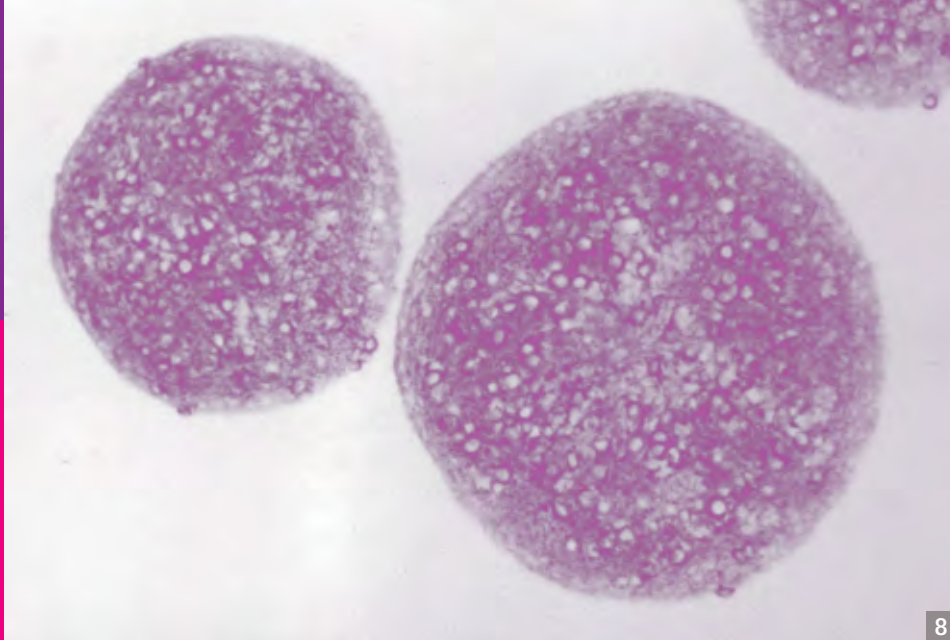
Lorsque les chercheurs travaillent sur des rongeurs, il est important que ceux-ci soient sains. Pour étudier à l'aide de techniques classiques si les souches de rongeurs étaient infectées par des virus, on employait de nombreux rongeurs. Des chercheurs de Zurich et de New York ont élaboré une méthode de remplacement pour ce test de production d'anticorps. Aujourd'hui, on peut réaliser ce test par des méthodes de biologie moléculaire (PCR) – sans animaux. Le test réduit non seulement l'utilisation d'animaux, mais est aussi moins onéreux, plus rapide et plus fiable.

[www.forschung3r.ch](http://www.forschung3r.ch)  
Liste des projets: 74-00

#### 6 Contrôle des greffons sur des cultures osseuses

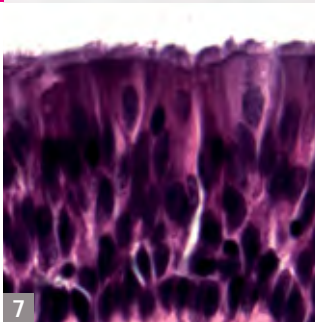
Les greffons utilisés par exemple suite à une fracture sont généralement testés sur le mouton. Mais il existe une méthode de substitution: à l'aide de cultures de rondelles d'os vivantes, on peut obtenir du matériel osseux qui fonctionne presque comme dans l'organisme intact. Ceci se fait en soumettant le matériel osseux à une pression périodique pendant la culture. Ce matériel osseux permet de mieux étudier les processus qui ont lieu dans l'os. Par conséquent, une partie des expériences destinées à contrôler les greffons n'a plus besoin d'être réalisée sur le mouton. Le matériel utilisé provient soit d'animaux tués en abattoirs, soit d'os humains superflus suite à une opération de la hanche.

[www.forschung3r.ch](http://www.forschung3r.ch)  
Liste des projets: 86-03, 78-01



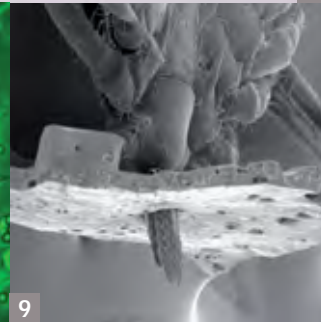
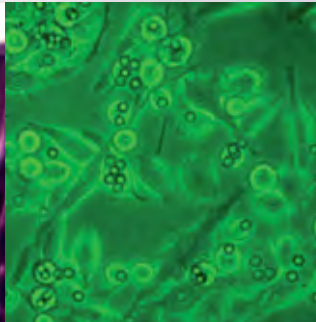
Apport sanguin insuffisant. A l'aide de cultures de cellules cérébrales, les chercheurs peuvent étudier l'apparition et le déroulement des ischémies.

8



7

Des particules mal connues. L'effet de particules sur le poumon peut être étudié sur des cellules.



9

Une tique transperce une membrane à l'aide de sa trompe (photo de gauche). Tiques gonflées, ayant déjà bu (photo de droite).



## 7 Etudier les particules dans des cellules et non dans le poumon

On sait depuis longtemps que la plupart des maladies des voies respiratoires sont dues à l'inhalation de particules. Le comportement des nanoparticules en particulier est encore mal connu. Les études sur leurs effets négatifs sur l'animal sont pénibles pour celui-ci, mais aussi onéreuses et longues. Les chercheurs ont donc élaboré un modèle de culture cellulaire tridimensionnel pour étudier l'interaction entre les particules et le poumon. Les types de cellules directement touchés (p. ex. cellules épithéliales) sont exposés aux particules dans une chambre spéciale.

Ensuite, on mesure l'effet des particules sur les cellules. Ce procédé permet de remplacer les expériences sur animaux qui nécessitent une inhalation pour détecter d'éventuelles lésions pulmonaires causées par certaines substances.

[www.forschung3r.ch](http://www.forschung3r.ch)  
Liste des projets: 89-03

## 8 Etudier les lésions cérébrales sur la cellule

Un apport sanguin insuffisant, appelé ischémie, conduit rapidement dans le cerveau à des lésions des cellules nerveuses. Actuellement, une grande partie de la recherche sur l'ischémie cérébrale se fait sur l'animal, ce qui peut représenter une forte contrainte pour les animaux. Les chercheurs ont donc élaboré une culture cellulaire tridimensionnelle à partir de cellules cérébrales, laquelle reproduit un grand nombre de caractéristiques du cerveau. Ainsi, il est aujourd'hui possible d'étudier in vitro divers aspects de l'ischémie – sans animaux. En raison de sa pertinence, cette méthode est également évaluée dans le cadre du projet européen ACuteTox en tant que modèle d'identification de substances neurotoxiques.

[www.forschung3r.ch](http://www.forschung3r.ch)  
Liste des projets: 64-97

## 9 Nourrir les tiques par un système synthétique

Pour élaborer des produits contre les tiques, on a besoin d'expériences sur animaux. En effet, on a besoin d'animaux hôtes sur lesquels les tiques se nourrissent de sang. Les chercheurs ont inventé une manière de nourrir les tiques dans laquelle une membrane en silicone remplace la peau de l'animal hôte. Le produit servant à nourrir les tiques (sang) se trouve sous la membrane et peut être additionné de produits à tester. Les tiques femelles prennent un repas complet de sang, puis elles produisent des œufs d'où sortent des larves. Ce système peut être automatisé et utilisé par exemple pour tester de nouveaux produits contre les tiques. Il présente plusieurs avantages par rapport aux méthodes classiques, et il permet d'économiser un grand nombre d'animaux hôtes.

[www.forschung3r.ch](http://www.forschung3r.ch)  
Liste des projets: 79-01





# Replace: limites des méthodes sans animaux

Remplacer une expérience sur les animaux par une méthode sans animaux est la meilleure solution, mais ce n'est pas toujours possible. On a déjà fait de bonnes expériences avec des cellules, mais ce système a lui aussi des limites.

«Replace» signifie que l'on remplace l'expérimentation animale. Ce n'est pas toujours facile, car une méthode 3R peut rarement remplacer directement une expérience sur animaux. Mais il se peut qu'une ou plusieurs méthodes 3R combinées fournissent assez d'informations pour pouvoir se passer d'une expérience sur animaux.

On a déjà fait à cet égard de bonnes expériences avec des cellules. Ainsi, il est

aujourd'hui possible de construire à l'aide de couches cellulaires une sorte de peau artificielle sur laquelle on peut tester si des substances sont nocives. Cet aspect est intéressant par exemple pour l'industrie des cosmétiques. Mais les expériences sur les cellules, les tissus et les organes isolés ont des limites, car elles ne permettent pas d'étudier les phénomènes complexes qui ont lieu dans le corps intact. Ou pour parler de manière simplifiée: les cellules ne connaissent ni la peur ni la diarrhée.

## Replace: que dit la loi?

En raison du devoir de se limiter «à l'indispensable», une expérience sur les animaux ne peut pas être autorisée si le but visé peut être atteint par d'autres méthodes qui sont fiables d'après l'état actuel des connaissances. Une expérience sur les animaux est en particulier illicite si les douleurs, les maux, les dommages ou l'état d'anxiété causés à l'animal sont disproportionnés par rapport au bénéfice escompté en termes de connaissances.

Art. 17, LPA; art. 19, al. 4, LPA



### **Pas d'expérimentation animale pour les cosmétiques en Suisse**

De nombreuses personnes en Suisse croient que les produits cosmétiques sont encore testés sur les animaux avant d'être mis sur le marché. Or, tel n'est plus le cas en Suisse depuis déjà plusieurs années. L'UE a également réagi: depuis septembre 2004, il est interdit de tester des produits cosmétiques finis sur les animaux sur le territoire de l'UE. En Allemagne, en Autriche, en Grande-Bretagne et aux Pays-Bas, de telles expériences sur les animaux sont déjà interdites par des lois nationales depuis la fin des années 90. Les tests sont aujourd'hui le plus souvent réalisés sur des cellules et non sur des animaux. Au cours des dernières

années, l'industrie cosmétique a investi 500 millions d'euros dans la recherche sur les méthodes de substitution. Neuf méthodes ont jusqu'à présent été validées par l'ECVAM.

La prochaine grande étape sera le 11 mars 2009: à partir de là, tous les tests sur les animaux d'ingrédients de cosmétiques seront interdits sur le territoire de l'UE, même si une méthode de substitution n'est pas encore disponible. A quelques exceptions près, il sera à partir de cette date également interdit de vendre des produits ayant été testés sur des animaux. 2000 entreprises sont concernées en Europe par cette directive.

### **Des cellules sanguines sauvent 500 000 lapins par an**

Le 21 mars 2006 a été une date importante pour de nombreux lapins de laboratoire: un comité scientifique (ECVAM Scientific Advisory Committee) a recommandé à la Commission européenne cinq méthodes de substitution pour le test pyrogène. Le test pyrogène sert au contrôle de qualité, pour détecter les impuretés dans les produits médicaux. Maintenant, ce test peut être effectué à l'aide de cellules. On n'a plus besoin de lapins. Selon les estimations d'experts, ces nouvelles méthodes sauvent la vie de 200 000 lapins par an dans l'UE et d'un demi-million de par le monde.

Les pyrogènes sont des substances qui peuvent déclencher chez l'homme de la fièvre ou des états de choc mortels. Avant qu'un médicament soit mis sur le marché, il doit donc être soumis à un test pour détecter la présence éventuelle de ces substances indésirables. Pendant plus de 50 ans, on a recherché les pyrogènes sur le lapin: on injectait au lapin la substance à tester et on surveillait sa température. Une augmentation de la température permet de conclure à la présence de pyrogènes.

Les cinq méthodes de substitution recommandées en 2006 peuvent remplacer complètement les expériences sur les lapins. Elles présentent plusieurs avantages: elles sont plus rapides, moins onéreuses et plus sensibles. Tous les systèmes utilisent des cultures de cellules sanguines humaines.

### **Le test de Draize bientôt remplacé complètement**

Le test de Draize, introduit dans les années 1940, consiste à contrôler sur le lapin si un produit chimique, un cosmétique ou un médicament irrite les yeux. A cet effet, on applique la substance sur l'œil de l'animal et on évalue l'irritation. Aujourd'hui, on identifie les substances tout d'abord par des méthodes in vitro. Les substances fortement irritantes sont écartées. Celles qui restent sont fortement diluées avant d'être instillées dans l'œil.

Mais on ne veut pas en rester là: la recherche de méthodes de remplacement continue. Une approche qui semble prometteuse consiste à construire en laboratoire une cornée humaine synthétique à l'aide de cellules correspondantes. De telles cornées cultivées sont déjà disponibles sur le marché. Les chercheurs se concentrent sur la cornée, car elle est la première couche avec laquelle un produit chimique entre en contact lorsqu'il pénètre dans l'œil.

Une autre méthode de remplacement de ces tests consiste à utiliser les yeux de bœufs ou de poulets tués en abattoirs. Là encore, des progrès ont pu être accomplis au cours des dernières années. On peut donc espérer que ces tests remplaceront bientôt complètement en Europe le test de Draize et que le passage de «reduce» à «replace» sera ainsi définitivement réalisé.

### **10 000 rats épargnés**

Depuis le milieu des années 80, Novartis produit le principe actif calcitonine. La calcitonine permet de renforcer les os des patients souffrant de maladies telles que l'ostéoporose, et elle soulage souvent la douleur. Cependant, avant qu'un nouveau lot du médicament ne soit mis sur le marché, il faut vérifier si la calcitonine contenue dans une certaine formule est sûre et efficace. Jusque tout récemment, ces tests étaient effectués sur des rats.

Le groupe d'analyse biologique de Novartis cherchait depuis la fin des années 90 une méthode permettant d'utiliser des cellules plutôt que des animaux de laboratoire vivants. Finalement, une telle méthode a été élaborée en collaboration avec l'Université de Heidelberg et perfectionnée par des chercheurs de Novartis. Il s'agit de cultiver des cellules, puis de les mettre en contact avec la calcitonine. L'hormone calcitonine se fixe à la surface des cellules et déclenche ainsi une réponse à l'intérieur de la cellule: en fonction de la quantité de calcitonine, les cellules sécrètent un messenger chimique (cAMP). Celui-ci peut être mis clairement en évidence et permet donc de mesurer l'activité de la calcitonine.

Grâce à cette méthode validée par Novartis et reconnue par l'autorité sanitaire américaine FDA, l'entreprise Novartis a elle seule fait l'économie de 10 000 rats par an pour le principe actif calcitonine.



Les chercheurs placent une souris sous anesthésie dans un appareil d'IRM. L'IRM permet dans certains cas de réduire de 90% le nombre d'animaux utilisés dans une expérience.

## Reduce: aussi peu que possible, autant qu'il le faut

Le deuxième principe des 3R est: réduction. Nombre d'expériences sur les animaux peuvent aujourd'hui être réalisées avec infiniment moins d'animaux qu'à l'origine. De nouvelles technologies, telles que l'IRM ou la conception de médicaments assistée par ordinateur en sont la clé.

La réduction du nombre d'animaux de laboratoire au strict minimum est une obligation éthique et économique. Cependant, les chercheurs ne doivent pas oublier qu'il ne faut pas réduire le nombre d'animaux au point que les données n'aient plus de pertinence statistique. En effet, les résultats seraient alors sans valeur et il faudrait recommencer l'expérience.

Le principe «reduce» consiste essentiellement à déterminer le nombre optimal d'animaux pour une expérience. A cet effet, on peut obtenir autant d'informations que possible par des études réalisées en

parallèle et n'utilisant pas d'animaux, de sorte que l'on peut réduire l'ampleur de l'expérience sur l'animal.

### **3R n'est pas toujours une unité**

3R est presque toujours décrit comme une unité. Dans la pratique, il peut en réalité y avoir des conflits entre les R, comme le montre l'exemple suivant: dans le cadre d'un test, dix rats doivent souffrir. Un autre test a besoin de 20 rats, mais ceux-ci ne souffriront pas ou peu. Quelle décision le chercheur doit-il prendre? Une telle décision doit être prise au cas par cas. En principe, les experts s'accordent à penser que la deuxième solution

est la meilleure. La réduction de la contrainte pour chaque animal est plus importante que la réduction du nombre d'animaux utilisés.

### **Reduce: que dit la loi?**

Les expériences qui peuvent causer aux animaux des douleurs, des maux ou des dommages, les mettre dans un état d'anxiété, perturber notablement leur état général ou porter atteinte à leur dignité d'une autre manière doivent être limitées à l'indispensable.

Art. 17, LPA

## Plus d'informations avec moins d'animaux

Il existe des méthodes permettant d'examiner les animaux sans intervention chirurgicale. Des exemples en sont l'imagerie par résonance magnétique (IRM), la tomographie par émission de positons (TEP) ou la tomодensitométrie (scanner). Les progrès rapides que ces processus d'imagerie ont connu au cours des dernières années bénéficient aujourd'hui aussi aux animaux de laboratoire. Par exemple, dans l'industrie pharmaceutique, les chercheurs observent le déroulement de l'effet d'un principe actif sur l'animal en examinant plusieurs fois le même animal par IRM au lieu de tuer les animaux à différentes phases pour les examiner (voir interview en page 25).

Nicolau Beckmann, de l'institut de recherche de Novartis NIBR, s'est penché en 2006 sur les possibilités de l'IRM pour étudier la pneumonie chez le rat. «Grâce à l'IRM, nous avons pu diminuer nettement le nombre d'animaux. En fonction de l'application, le nombre était de 80 à 90% inférieur au nombre utilisé avec une méthode classique», explique Nicolau Beckmann. D'autres avantages de l'IRM sont la légèreté de la contrainte pour l'animal et la possibilité de standardiser les tests. Cependant, il reste certaines limites: pour le moment, il n'y a pas beaucoup de dispositifs d'IRM adaptés à l'examen des rongeurs.

www.forschung3r.ch  
Liste des projets: 82-02

## Le test DL50 n'existe plus

L'OCDE a décidé en novembre 2000 de supprimer la ligne directrice 401. Celle-ci visait le test appelé «DL50». Ce test servait à déterminer quelle quantité d'un produit est nécessaire pour causer la mort de 50% des animaux testés en l'espace de deux semaines (dose létale). Ce test renseignait sur la toxicité aiguë d'une substance, permettant d'en déterminer la dangerosité immédiate. Il était surtout utilisé pour caractériser les produits chimiques.

Grâce aux nouveaux processus autorisés par l'OCDE, le test de toxicité aiguë n'a pas pu être remplacé complètement, mais on n'utilise plus que 8,5 animaux en moyenne au lieu de 150 comme dans les années 70. Ce résultat est rendu possible par une augmentation progressive de la dose jusqu'à apparition de symptômes chez les animaux. Si tel est le cas, les animaux sont tués.

La prochaine étape devrait consister à remplacer également les procédés autorisés par l'OCDE en novembre 2000, de sorte qu'on n'aura plus besoin d'animaux. Ceci est également important du point de vue de REACH, le règlement d'enregistrement, évaluation et autorisation des substances chimiques de l'UE. A partir de 2008, 30 000 substances chimiques vont être testées au sein de l'UE (voir page 30). On estime que malgré les méthodes de substitution disponibles aujourd'hui, plusieurs millions d'animaux supplémentaires seront tout de même nécessaires.

www.acutetox.org

## L'ordinateur d'abord, l'animal vivant ensuite

Aujourd'hui, des processus informatiques contribuent eux aussi à faire diminuer l'expérimentation animale. Dans l'élaboration des médicaments par exemple, on identifie tout d'abord des points d'attaque (la cible) pour le futur médicament. Une fois que l'on dispose de suffisamment d'informations – p. ex. du récepteur dans la cellule –, on peut concevoir sur ordinateur des substances correspondant à ce récepteur. On appelle ce processus la modélisation. A partir de dizaines de milliers de substances, on en sélectionne alors quelques-unes qui présentent in vitro (en général sur des cultures cellulaires) l'effet voulu. On s'aide pour cette sélection de l'ordinateur (processus in silico) et de tests automatisés (criblage à haut débit). Seules ces quelques substances seront ensuite testées sur l'animal.

Cependant, il ne suffit pas qu'un médicament soit efficace, il doit aussi être sûr. Une première prédiction sur les éventuels effets secondaires d'une substance dans l'organisme peut être obtenue par le procédé appelé QSAR (relation structure-activité quantitative). Il se base sur le fait que des substances chimiquement similaires ont un effet nocif similaire. Une autre méthode, qui va dans une direction apparentée, est présentée à la page 24.

Depuis des années, l'idée de remplacer complètement les tests des principes actifs par des procédés in silico existe, c'est-à-dire de simuler sur ordinateur l'effet des substances. Cependant, ceci ne sera pas possible à court terme, car le corps humain est trop complexe.



Ensemble. Il ne faut pas isoler les chiens. Il existe aujourd'hui des systèmes permettant de détenir les chiens en groupes sans porter atteinte aux résultats de l'expérience.

# Refine: diminuer les contraintes pour les animaux

Le «refinement» se compose de toute une gamme de possibilités visant à diminuer la contrainte pour les animaux. Il est important par exemple de détenir les animaux sociaux en groupes et d'enrichir les cages, par exemple par un abri et de petites branches.

On entend par «refinement» toutes les mesures destinées à réduire la contrainte, la douleur et la souffrance des animaux avant, pendant et après une expérience. Le «refinement» se justifie non seulement pour la protection des animaux, mais aussi pour des raisons scientifiques, car la contrainte qui s'exerce sur l'animal peut fausser les résultats de l'expérience.

Le «refinement» comprend l'utilisation de méthodes chirurgicales stériles, d'analgésiques, et d'un déroulement de l'expérience aussi peu stressant que possible pour l'animal. Mais ce n'est pas tout: en

effet, l'expérience n'est pas la seule contrainte qui s'exerce sur l'animal, le type de détention joue aussi un rôle. Ainsi, la contrainte est forte pour un animal sauvage utilisé pour une expérience. On utilise donc aujourd'hui presque uniquement des animaux d'élevage. Mais si on ne se préoccupe pas des animaux, si les cages sont nues et s'ils sont isolés, ceci représente aussi une contrainte. Or, il est aujourd'hui possible de prévenir ces contraintes.

En Suisse, c'est en particulier la Société suisse pour la science des animaux de la-

boratoire qui diffuse les méthodes de «refinement». De nombreux vétérinaires sont membres de cette société.

[www.sgv.unizh.ch](http://www.sgv.unizh.ch)

## Refine: que dit la loi?

Des douleurs, des maux, des dommages ou un état d'anxiété ne peuvent être imposés à un animal que si le but de l'expérience ne peut être atteint d'une autre manière.

Art. 20, al. 1, LPA



## Enrichissement: quand le box contient plus que de la litière

Les souris et les rats de laboratoire passent leur vie en cage. Diverses études démontrent que les rongeurs vivant dans des cages peu stimulantes sont perturbés au niveau du développement cérébral, présentent des anomalies du comportement et sont anxieux. En enrichissant les cages par des abris, du papier, de petites branches et des dispositifs permettant de grimper, on peut réduire l'apparition de ces troubles. C'est ce que les experts appellent l'enrichissement de l'environnement. En effet, les souris et les rats veulent découvrir leur environnement, construire des nids et se cacher en cas de danger. «Diverses études ont montré que les rongeurs utilisent ces structures et sont de ce fait moins anxieux et ont moins de troubles du comportement», explique Hanno Würbel, professeur à l'Université de Giessen.

On craignait que l'enrichissement porte atteinte à la précision des données fournies par l'expérimentation animale. Hanno Würbel a réfuté cette réserve dans le cadre d'une étude réalisée en 2004. «Notre étude a montré que l'enrichissement ne nuit en rien à la pertinence des expériences», dit Hanno Würbel.

[www.forschung3r.ch](http://www.forschung3r.ch)

Liste des projets: 77-01, 66-99

## Comportement social: les rongeurs vivent en groupes

Les rongeurs, animaux le plus fréquemment utilisés dans l'expérimentation animale, vivent en groupes – à l'exception du hamster. Pour les souris et les rats, il est donc important de les détenir en groupes et de ne les isoler qu'exceptionnellement. Les rats en particulier sont des animaux très sociaux, qui se nettoient mutuellement la fourrure et communiquent entre eux par des messagers chimiques et des sons.

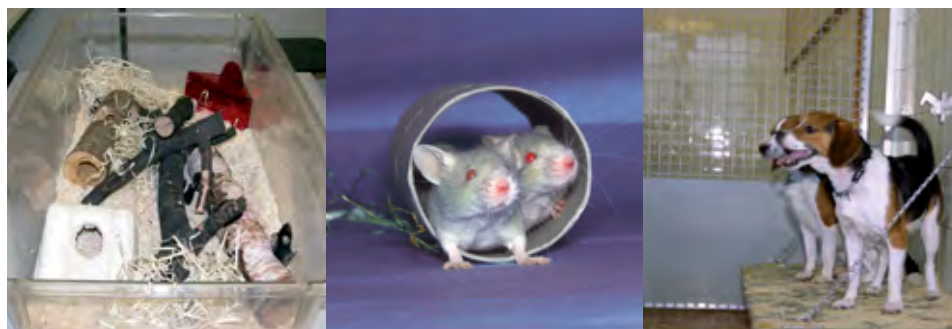
Au sein d'un groupe, les rats et les souris ont une hiérarchie stable, mais uniquement à condition que les individus du groupe ne soient pas trop nombreux. Des études ont montré que la taille idéale du groupe est de quatre à huit souris et de trois à quatre rats. Si les animaux sont plus nombreux, il y a plus de luttes de dominance. Pour éviter les bagarres, il convient de former des groupes d'animaux jeunes et de ne plus les modifier par la suite.

Il ne faut pas non plus isoler les chiens. Il existe des systèmes éprouvés pour la détention de chiens permettant une vie en groupe tout en garantissant que les données nécessaires à l'expérience pourront être relevées pour chaque chien séparément (p. ex. nourriture absorbée).

## Point limite: éviter les souffrances

Le point limite est le moment le plus précoce où l'on peut stopper une expérience avant que l'animal ne soit soumis à une trop forte contrainte. Il est défini comme le moment où l'on peut interrompre une expérience, parce que les connaissances nécessaires ont été obtenues et que les animaux n'ont pas encore été soumis à des souffrances graves. Avant le début de l'expérience, il faut définir dans quelle situation et comment on veut empêcher ou mettre fin aux souffrances pour chaque animal. Ces situations sont déterminées à l'aide de scores (p. ex. perte de poids rapide, respiration difficile, fourrure ébouriffée ou paralysie).

La règle générale est que les animaux ressentent la douleur de manière similaire à l'homme. Mais il ne suffit pas de le savoir. Un personnel formé doit être capable de détecter les situations douloureuses pour les animaux en cours d'expérience. Si on est obligé de tuer les animaux pendant ou après l'expérience, il faut le faire dans la mesure du possible sans douleur, selon des méthodes reconnues et définies par la loi (voir en p. 18).



# Moins de douleur, expériences plus parlantes

Depuis quelques années, on administre aux animaux de laboratoire des analgésiques quand ils risquent de souffrir. C'est positif pour l'animal et pour l'expérience. En effet, une expérience réalisée sur un animal qui souffre risque de livrer des informations sans valeur.

«Beaucoup de gens pensent que l'on voit sur l'animal s'il souffre, mais c'est une idée fausse», dit Peter Maier, conseiller scientifique de la Fondation Recherches 3R. Chez les souris et les rats par exemple, seul un personnel bien formé pourra détecter la douleur. «Si une souris a un comportement perturbé, prend une position anormale ou perd du poids, on peut partir du principe que la douleur dont elle souffre est déjà très forte», explique Peter Maier. Un chien en revanche montre sa douleur clairement et peut aussi donner de la voix pour attirer l'attention. Chez les moutons, on ne sait pas encore exactement comment ils expriment une douleur ou une contrainte prolongée.

Il y a quelques années, on a adopté une pratique consistant à administrer des analgésiques aux animaux de laboratoire quand il est prévisible qu'ils risquent de souffrir. En particulier suite à une intervention chirurgicale, l'administration d'analgésiques est aujourd'hui le processus standard, bien souvent prescrit par la loi. Les avantages des analgésiques sont évidents: la douleur risque de perturber l'ensemble de l'organisme de l'animal de manière imprévisible, de sorte que les ré-

sultats de l'expérience seront faussés sans que le responsable de l'expérience s'en aperçoive. Si les animaux souffrent moins, les résultats des expériences sont plus fiables.

Pour pouvoir administrer correctement les analgésiques, il faut cependant avoir des connaissances spécialisées: les signes de douleur sont différents d'une espèce animale à l'autre, mais aussi en fonction de l'intervention chirurgicale ou de l'organe concerné. Les personnes qui dirigent les expériences et celles qui s'occupent des animaux doivent pouvoir évaluer l'efficacité des analgésiques sur différentes espèces animales. Elles doivent avoir des connaissances au sujet du fonctionnement des médicaments utilisés, de la durée et du site de leur effet ainsi que sur les différentes formes galéniques.

## Il y a des exceptions

Aujourd'hui, on renonce à administrer des analgésiques uniquement dans des cas exceptionnels, tels que les essais destinés à étudier le rhumatisme, le cancer ou d'autres maladies pour lesquelles les analgésiques faussent les résultats. Dès

que le responsable de l'expérience s'aperçoit que le médicament étudié ne produit pas l'effet voulu, l'expérience est stoppée et l'animal tué.

Un autre élément important de nature à réduire la peur et la souffrance de l'animal est le fait de l'habituer à l'expérience prévue. Le gardien d'animaux joue à cet égard un rôle important par sa manière de s'occuper des animaux.

Le fait de bien planifier une expérience signifie aussi que l'on définit des critères menant à interrompre l'expérience. Il s'agit de critères préalablement décrits dans la demande d'autorisation de l'expérience et qui définissent quand celle-ci devra être stoppée (point limite).

L'administration d'analgésiques a aussi des inconvénients: le simple fait de «prendre l'animal dans la main» peut lui faire peur, même si cette action a lieu dans les règles de l'art. Il faut donc mettre en balance la réduction de la douleur et le stress supplémentaire. Un animal stressé vit l'expérience comme une plus forte contrainte.





**Connaissances nécessaires.** Pour pouvoir administrer les analgésiques en quantité correcte au bon moment, il faut avoir des connaissances spécialisées. En effet, tous les animaux ne manifestent pas la douleur de la même manière.

## Classification des expériences sur animaux

### **Sans contrainte: degré de gravité 0**

Interventions et manipulations sur des animaux dans un but expérimental et qui ne représentent pas de contrainte (aucune douleur, mal ou dommage) pour les animaux.

*Exemples: prise de sang sur les vaches à des fins diagnostiques; détention de rats dans un enclos enrichi à des fins d'observation.*

### **Contrainte légère: degré de gravité 1**

Interventions et manipulations occasionnant une contrainte (douleurs ou dommages) légère et de courte durée.

*Exemples: injection d'un médicament avec contention; castration d'animaux mâles sous anesthésie.*

### **Contrainte moyenne: degré de gravité 2**

Interventions et manipulations occasionnant une contrainte moyenne et de courte durée, ou une contrainte légère de durée moyenne à longue (douleurs, maux, dommages, grande anxiété ou trouble notable de l'état général).

*Exemple: intervention chirurgicale sur une fracture provoquée artificiellement (sous anesthésie) à une patte.*

### **Contrainte sévère: degré de gravité 3**

Interventions et manipulations occasionnant une contrainte sévère à très sévère ou une contrainte moyenne de durée moyenne à longue.

*Exemples: greffes, maladies infectieuses ou cancéreuses potentiellement mortelles.*



# Etudes sur le vivant

Les animaux génétiquement modifiés sont très appréciés par la recherche car ils permettent de trouver des réponses à des questions insolubles par d'autres moyens. Ils permettent d'étudier sur l'animal vivant ce qui se passe par exemple lorsqu'on inactive un certain gène.



Les souris transgéniques en point de mire. Les souris transgéniques sont un objet de recherche très apprécié, parce qu'elles permettent d'observer sur l'animal vivant les effets d'une modification sur un gène précis.

Il est souvent impossible d'étudier les maladies et les processus du corps sur des cellules isolées. La maladie d'Alzheimer par exemple ne touche pas des cellules isolées, mais des régions entières du cerveau. La maladie provoque en outre des modifications du comportement que l'on ne peut pas étudier sur la cellule. Les chercheurs ne se servent donc pas de «cellules d'Alzheimer», mais de ce que l'on appelle un modèle animal. Il s'agit de souris génétiquement modifiées qui développent une maladie qui ressemble à la maladie d'Alzheimer humaine, même si elle n'est pas identique. A l'aide de ces souris, les chercheurs peuvent obtenir des informations sur l'apparition de la maladie d'Alzheimer et tester de nouveaux traitements.

De tels modèles d'animaux sont souvent créés à l'aide de méthodes du génie génétique. L'avantage des expériences réalisées avec ces animaux génétiquement modifiés (transgéniques) est que l'intervention dans le patrimoine héréditaire n'est pas due au hasard comme dans le cas d'un croisement. On peut au contraire inactiver (knock-out) ou ajouter (knock-in) un gène de manière ciblée. Ces animaux permettent d'observer sur l'organisme vivant l'effet d'une modification génétique.



Les souris transgéniques ont par exemple permis de faire nettement progresser la recherche sur la maladie héréditaire la plus courante en Europe de l'Ouest, la fibrose kystique (FC). Un enfant sur 2000 environ est atteint de FC. Les poumons de ces enfants produisent des muqueuses épaisses dont la toux ne les débarrasse pas. Il n'y a pas encore de traitement permettant de guérir la FC, mais grâce aux souris FC, on en sait aujourd'hui beaucoup plus sur cette maladie. Ce savoir est la condition d'élaboration de traitements.

### Généralement plusieurs gènes en cause

Mais même les souris transgéniques ne permettent pas de répondre à toutes les questions en suspens: de nombreuses maladies humaines ne sont pas dues à la modification d'un seul gène, mais aux interactions entre plusieurs gènes qui ne

font pas ce qu'ils devraient. L'analyse des maladies est donc très difficile. C'est la raison pour laquelle les opposants à l'expérimentation animale insistent sur la pertinence limitée des expériences réalisées sur des animaux génétiquement modifiés. Les experts sont d'avis que la possibilité de transférer les données de l'animal à l'homme peut varier fortement d'un cas à l'autre.

Cependant, les animaux génétiquement modifiés sont utiles à la recherche fondamentale et par conséquent très appréciés. C'est l'une des raisons pour lesquelles le nombre d'animaux de laboratoire a recommencé à augmenter – en particulier depuis le décryptage du génome humain. Depuis, les chercheurs connaissent tous les gènes humains, mais ils sont loin de connaître la fonction de chacun de ces gènes. Les animaux transgéniques peuvent aider à résoudre

cette question, car de nombreux gènes humains sont présents sous une forme similaire chez la souris.

L'inconvénient est que la production d'une souche de souris transgéniques peut durer très longtemps et nécessiter un grand nombre d'animaux: l'élaboration peut prendre plusieurs mois ou même plusieurs années.

#### Génétiquement modifié? Transgénique?

Les organismes génétiquement modifiés sont des organismes dont on a modifié le patrimoine héréditaire de manière ciblée par le biais de méthodes du génie génétique. Le terme transgénique décrit un processus similaire. Les animaux transgéniques sont des organismes qui ont été modifiés par inactivation d'un de leurs gènes ou par ajout d'ADN dans les cellules. En 2005, 94 000 souris génétiquement modifiées ont été utilisées en Suisse. 12% de ces animaux subissent des souffrances moyennes ou sévères.

## Les animaux de laboratoire bénéficient des nouvelles méthodes

Les modèles animaux classiques obtenus à l'aide d'animaux génétiquement modifiés ont des inconvénients. Bien souvent, ils ne sont pas souples, les gènes modifiés sont actifs à un stade du développement inadéquat ou dans un organe qui n'est pas celui visé. Les résultats des examens peuvent s'en trouver faussés.

### Activation et inactivation des gènes uniquement en cas de besoin

Aujourd'hui, on utilise de plus en plus de systèmes qui permettent de contrôler l'activité des gènes «de l'extérieur». Un exemple en sont les systèmes «tet-on/tet-off»: en administrant l'antibiotique tétracycline, on peut activer le gène modifié au moment voulu, puis l'inactiver (en cessant d'administrer la tétracycline).

### Activation et inactivation des gènes uniquement là où on en a besoin

Les souris knock-out classiques ont, dès leur naissance et dans tous leurs organes, un défaut génétique créé par génie génétique. Le développement de la souris peut s'en trouver perturbé de manière intempestive. On crée donc aujourd'hui des souris knock-out sur lesquelles le défaut génétique est limité à un type de cellules ou à un organe. C'est ce que permet par exemple le système appelé Cre/lox.

Ces nouveaux modèles animaux sont parfois disponibles dans des collections internationales et n'ont donc pas besoin d'être recréés de toutes pièces à chaque fois. Kurt Bürki, professeur à l'Université de Zurich et spécialiste en modèles animaux génétiquement modifiés, commente: «Ces nouveaux systèmes sont beaucoup plus pré-

cis que les anciens. Les résultats des expériences ne sont plus faussés par des effets secondaires indésirables et la qualité des résultats augmente donc. En même temps, il y a moins lieu de craindre des troubles de la santé.»

Une autre méthode, appelée interférence ARN, pourrait contribuer à diminuer le nombre de souris transgéniques produites pour l'expérimentation animale. La méthode iARN permet d'inactiver des gènes sur des animaux normaux, directement au niveau des tissus. Au lieu de huit à douze mois comme pour créer une souche de souris knock-out, on n'a plus besoin avec cette nouvelle technique que de quelques semaines pour réaliser l'expérience. Un autre avantage est la possibilité d'inactiver simultanément plusieurs gènes. Il s'agit d'un élément décisif pour la recherche, car de nombreuses maladies relèvent non d'un seul, mais de plusieurs gènes inactivés.

Mais l'iARN a aussi des limites. On aura toujours besoin à l'avenir de souris knock-out, car la nouvelle méthode ne permet pas d'inactiver complètement un gène – tout au plus à 70%. Cependant, plusieurs chercheurs pensent que l'iARN est une méthode prometteuse, entre autres pour le traitement de maladies.

«Les nouveaux systèmes sont beaucoup plus précis que les anciens. Les résultats des expériences ne se trouvent pas faussés.»

Kurt Bürki, Université de Zurich





Des expériences sur les singes sont réalisées par l'industrie et les hautes écoles. En raison de la ressemblance du singe avec l'homme, ces expériences peuvent fournir des résultats uniques. Pour la même raison, ces expériences ne font pas l'unanimité.

Expériences sur les primates

# Une controverse éthique

«On entraîne les macaques à coopérer aux expériences. Ceci permet de réduire le stress pour l'animal et pour le gardien et d'améliorer les résultats», explique Walter Stamm, gardien d'animaux chez Roche. Mais les expériences sur les singes sont controversées.

Les expériences sur les singes sont surtout controversées du point de vue éthique, car ces animaux sont nos plus proches parents. En particulier, on souhaite empêcher les expériences sur les grands anthropoïdes, c'est-à-dire les gorilles, les orangs-outans et les chimpanzés. Dans quelques pays de l'UE (Autriche, Suède, Hollande), cette revendication a déjà été mise en œuvre. Les défenseurs des animaux revendiquent que l'interdiction s'applique même en cas de faible contrainte pour les animaux. De même, la majorité des membres de la Commission fédérale pour les expériences sur animaux (CFEA) et de la Commission fédérale d'éthique

pour la biotechnologie dans le domaine non humain (CENH) défendent cette position. En revanche, une majorité des membres de la Commission de la science du Conseil national pense qu'il est plus bénéfique à l'homme de peser rigoureusement les intérêts que d'interdire explicitement.

De l'avis des Commissions CFEA et CENH, les expériences sur les autres primates non anthropoïdes (p. ex. macaques rhesus, macaques de Java) ne doivent être autorisées qu'au terme d'un éclaircissement soigneux des questions éthiques, d'une pesée circonspecte des intérêts et avec «la plus grande retenue».

En Suisse, très peu d'expériences impliquant une contrainte sévère sont réalisées sur des primates. Cependant, c'est indispensable pour certaines questions, par exemple lorsqu'il s'agit de la sécurité des médicaments. En 2005, 148 primates ont été utilisés en Suisse dans le domaine de la recherche fondamentale biologique et médicale, et 260 dans le domaine découverte, développement et contrôle de qualité en médecine (greffes, recherche sur l'asthme, recherche sur le cerveau, neurobiologie, pharmacologie). Les expériences ont été réalisées par l'industrie et les hautes écoles.

## Expérimentation animale sur le macaque de Java: la confiance et la coopération sont cruciales

Walter Stamm est l'un des quatre gardiens d'animaux qui s'occupent chez Roche des macaques de Java. Chaque gardien s'occupe d'environ 15 animaux. Des expériences de pharmacocinétique sont réalisées sur ces macaques. On étudie comment une substance se répand dans le corps. Ces expériences représentent une faible contrainte pour les animaux. Les mêmes animaux sont détenus pendant des années et participent à plusieurs expériences.

«Tous les macaques de Java que nous utilisons pour les expériences sont issus d'élevages étrangers contrôlés, qui élèvent les animaux spécialement en vue d'une utilisation en laboratoire. Il est donc largement garanti que ces animaux n'aient ni maladies contagieuses ni parasites. Cependant, nous contrôlons soigneusement l'état de santé des animaux à leur arrivée.

Avant de commencer à les entraîner, la première phase consiste à établir une relation de confiance entre l'homme et l'animal. Les animaux doivent s'apercevoir que je ne leur veux pas de mal. La confiance s'instaure par exemple par le biais de la nourriture: on habitue les animaux à manger dans la main. Tous les singes n'aiment d'ailleurs pas les bananes. Certains y prennent goût peu à peu. Lorsque je nourris les singes, je dois respecter la hiérarchie au sein du groupe: il faut d'abord nourrir le mâle dominant, puis son second, puis le reste du groupe.

### Sans confiance, pas d'entraînement

Un autre facteur important pour la confiance est de laisser aux animaux le temps de s'habituer à leur nouvel environnement, aux bruits, à l'emploi du temps, à la nourriture – et bien sûr à nous, les gardiens. Une fois que la confiance est établie entre le gardien et l'animal, l'entraînement commence. Les animaux ap-

prennent à s'habituer aux humains, ce que l'on obtient en les caressant tous les jours. Ils doivent accepter le fait que je mette la main dans la cage. La phase suivante consiste à apprendre aux primates à passer volontairement une patte hors de la cage. C'est important pour les expériences, pour pouvoir effectuer des prises de sang (voir photo en bas à gauche). Lors des expériences sur les macaques de Java, on leur administre en général un principe actif, puis on effectue des prises de sang pendant deux ou trois jours. Ensuite, les singes ont un mois de répit. On entraîne donc les animaux pour qu'ils coopèrent lors des expériences. Ceci permet de réduire le stress pour l'animal et pour le gardien lors de la prise de sang, et d'améliorer les résultats des expériences. Par conséquent, on investit beaucoup de temps dans l'entraînement des animaux, en général entre un an et un an et demi.»





# Plutôt la souris de l'ordinateur

«Nous ne remplaçons pas l'expérimentation animale, mais nous la diminuons», déclare Angelo Vedani. Il utilise l'ordinateur pour réduire le nombre d'expériences sur les animaux. Cette technique a fait des progrès énormes au cours des 20 dernières années.

Le rêve d'Angelo Vedani est clair: un jour, la souris de l'ordinateur devrait être la seule souris utilisée pour exécuter des tests toxicologiques. Ces tests servent à mesurer la nocivité d'une substance. Angelo Vedani est spécialiste en conception de médicaments assistée par ordinateur (Computer Aided Drug Discovery [CADD]). La CADD est utilisée aujourd'hui en standard dans l'industrie pharmaceutique, d'une part pour concevoir sur ordinateur le principe actif optimal, d'autre part pour tester les éventuels effets secondaires du principe actif. Dans l'interview ci-après, Angelo Vedani expose son projet de CADD.

## Quels sont les avantages de la CADD?

Angelo Vedani: Lorsqu'en développement pharmaceutique, il s'agit de déterminer quels sont les 20 principes actifs qui méritent d'être développés plus avant, nous pouvons prédire sur ordinateur lesquels peuvent être abandonnés.

### Comme la clé dans la serrure

De nombreux principes actifs contenus dans les médicaments déploient leur impact en se fixant sur ce que l'on appelle des récepteurs. Un récepteur est une protéine située par exemple à la surface d'une cellule et qui transmet des signaux à l'intérieur de la cellule. Mieux le principe actif se fixe sur le récepteur voulu, plus le médicament est efficace. Mieux un principe actif se fixe sur un récepteur qui déclenche des effets indésirables, plus la probabilité est grande que ce principe actif aura des effets secondaires.

Nous ne remplaçons donc pas l'expérimentation animale, mais nous empêchons certaines expériences très pénibles.

## Quels autres avantages y a-t-il?

Un avantage est la reproductibilité des méthodes informatiques, c'est-à-dire que les chercheurs obtiendront toujours le même résultat pour un même test, qu'ils travaillent à Londres ou à Pékin. Ce n'est pas toujours le cas des expériences sur organismes vivants. Nous pouvons tester un principe actif très rapidement. Et les méthodes informatiques sont moins onéreuses que l'expérimentation animale. En effet, pour un test, nous n'avons besoin que d'un ordinateur puissant et du bon logiciel.

## Comment fonctionne cette méthode précisément?

Actuellement, notre système comprend huit récepteurs humains importants (voir encadré), dont le récepteur des androgènes, le récepteur des œstrogènes et l'enzyme du cytochrome P450. Nous pouvons calculer dans quelle mesure un principe actif à l'étude va se fixer sur un ou plusieurs de ces récepteurs. Si une forte liaison est présente, ce candidat sera éliminé du circuit d'évaluation, car il est très probable qu'il provoque des effets secondaires.

## Et quelles sont les limites de ce modèle?

Les substances en échec dans nos tests sont éliminées. Mais cela ne veut

pas dire automatiquement que les autres n'auront pas d'effets secondaires. Il est bien possible qu'un principe actif à l'étude se fixe sur un autre récepteur qui n'est pas dans notre banque de données. Il se peut aussi que la structure du candidat se modifie dans le corps et qu'il crée ainsi de nouvelles liaisons. Actuellement, nous nous efforçons de détecter à l'avance de telles prédictions faussement négatives.

## Que reste-t-il d'autre à faire?

Il n'existe pas encore un seul procédé *in silico* – c'est-à-dire basé sur des calculs informatisés – qui soit reconnu dans le monde entier pour les contrôles de toxicité. Nous essayons actuellement, en coopération avec les organes d'autorisation de mise sur le marché, de déterminer les critères qu'un tel logiciel doit remplir pour obtenir une autorisation.

## Dans quelle mesure les procédés *in silico* peuvent-ils être utiles dans le cadre du programme européen de contrôle des produits chimiques REACH (voir p. 30)?

Nous pouvons apporter une contribution importante. De nombreux produits chimiques nocifs pour l'environnement se fixent précisément sur les récepteurs que nous avons dans notre système. Nous disposons de bonnes bases pour prédire quelles substances auront des effets nocifs.





# «Beaucoup moins d'animaux»

Les méthodes d'imagerie non invasives sont des méthodes par lesquelles on observe un organisme (p. ex. une souris) sans avoir à pénétrer dans l'organisme. Il s'agit donc de méthodes douces qui présentent des avantages dans l'expérimentation animale.

*Le domaine de recherche de l'imagerie non invasive comprend toute une gamme de méthodes d'observation. De quelles méthodes s'agit-il?*

Markus Rudin: Il s'agit par exemple de méthodes telles que la radiographie classique ou sa variante plus moderne, la tomodensitométrie. Une autre méthode importante est l'imagerie par résonance magnétique (IRM) qui permet par exemple d'étudier en détail la structure et le fonctionnement du cerveau. La tomographie par émission de positons (TEP) et la tomographie de fluorescence sont d'autres exemples de ces méthodes.

*Quels sont les avantages de ces méthodes?*

Mis à part le fait que l'on n'a pas besoin de pénétrer dans le corps par des instruments, il y a trois autres avantages essentiels. La méthode est en principe identique pour l'homme et l'animal. Les résultats sont donc comparables. Un autre avantage se révèle au niveau des maladies chroniques, de longue durée: grâce aux méthodes non invasives, les chercheurs peuvent observer un même animal pendant une longue période, sans devoir le tuer pour l'examiner. On

peut détecter chez l'animal des modifications invisibles de l'extérieur, mais qui causent éventuellement des douleurs, ce qui indique qu'il faut stopper l'expérience. Ainsi, pour réaliser une expérience, on a besoin de beaucoup moins d'animaux, car chaque animal se contrôle lui-même. Dans le meilleur des cas, on peut économiser 80% des animaux ou même plus.

*Quel est le troisième avantage?*

Le troisième avantage est que nous pouvons étudier un effet dans l'organisme vivant. Par exemple en administrant une substance à une souris et en observant comment l'ensemble de l'organisme réagit.

*Quelle est actuellement la place de ces méthodes dans les laboratoires?*

Dans l'expérimentation animale, on utilise de plus en plus souvent des méthodes d'imagerie. Un obstacle à leur diffusion et à leur acceptation est le fait que nombre de ces nouvelles méthodes ne sont pas encore ou pas entièrement validées. Mais elles représentent un potentiel important, en particulier

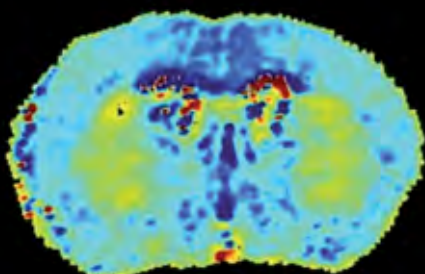
pour l'industrie pharmaceutique. Celle-ci a déjà des années d'expériences avec ces méthodes. L'industrie joue dans ce domaine un rôle pionnier.

*Quelle est l'utilisation dans les hautes écoles?*

Il y a de plus en plus de recherche dans ce domaine dans les hautes écoles, par exemple à l'Université et à l'EPF de Zurich où le Centre d'imagerie animale a été ouvert en 2005. Le but est d'une part de continuer à développer ces méthodes, et d'autre part de soutenir la recherche biomédicale de l'Université et de l'EPF de Zurich.

*Quelles sont les limites de ces méthodes?*

Pour le moment, la résolution et la sensibilité représentent des limites, ces deux aspects étant en partie liés. Par exemple, il n'est pas encore possible par ces techniques de représenter des cellules individuelles ou des groupes de cellules au sein d'un organisme vivant. Pour la plupart des méthodes, les limites ne sont cependant pas de nature physique, mais dues à l'état actuel de la technique. Je pense donc que nous pouvons espérer des progrès au cours des prochaines années.



## IRM fonctionnelle.

Les substances neuroactives modifient le flux et le volume sanguins dans la zone du cerveau concernée. Sur cette image de synthèse, les parties fortement irriguées apparaissent en rouge.

# La mise en œuvre est décisive

C'est dans la pratique que se décide si une méthode est effectivement utilisée et bénéficie aux animaux. Avant qu'une méthode soit reconnue par les autorités, cela dure des années, car de longs tests sont exigés pour la contrôler.

De nombreux experts sont unanimes: l'idée des 3R est aujourd'hui une évidence, mais la mise en œuvre dans les laboratoires au quotidien demande des efforts permanents. Lors de la mise en œuvre, il faut distinguer deux domaines (voir graphique):

- les **contrôles prescrits par la loi** (p. ex. contrôles de toxicité pour les produits chimiques, les médicaments et les vaccins)
- la **recherche fondamentale** pour laquelle le choix de la méthode est en principe libre. En général, les chercheurs choisissent pour une expérience

la méthode qui promet de mener au but avec la plus grande fiabilité.

Pour les deux domaines, la Loi fédérale sur la protection des animaux s'applique. Elle dit qu'une expérience sur les animaux ne peut pas être autorisée si le but visé peut être atteint par d'autres méthodes qui sont fiables d'après l'état actuel des connaissances.

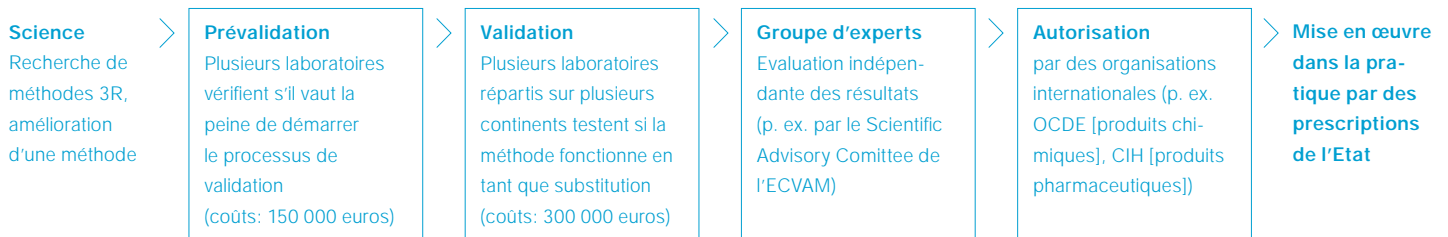
### Contrôles prescrits par la loi

Pour ce qui est des contrôles prescrits par la loi, des organes internationaux déterminent quelles méthodes 3R peuvent

être employées. Les protocoles de réalisation des expériences par des méthodes de substitution sont fixés dans les moindres détails. Ces protocoles ont été précédemment validés, c'est-à-dire que leur adéquation a été vérifiée. En Europe, c'est l'organisation ECVAM (European Centre for the Validation of Alternative Methods) qui est responsable de ces validations. Jusqu'au printemps 2007, l'ECVAM avait validé 25 méthodes de substitution en tout, et dix avaient été reconnues par les autorités, par exemple l'OCDE (toutes étant des méthodes de contrôle toxicologique de produits chimiques ou de médi-

## Le long chemin de la mise en œuvre

Pour les contrôles prescrits par la loi (p. ex. contrôles de toxicité), durée: 5 à 10 ans



La validation a pour but de démontrer la pertinence scientifique et la reproductibilité d'une méthode selon des critères définis. La méthode est soumise à un test pratique dans plusieurs laboratoires indépendants, et, dans l'idéal, sur différents continents. Un grand nombre d'échantillons différents sont contrôlés selon un procédé décrit avec précision (protocole standardisé). Si les résultats obtenus sont identiques, la première étape est franchie. Il faut

ensuite définir la valeur scientifique par rapport à l'expérimentation animale. Une validation réussie est la condition de la reconnaissance d'un test par les autorités. Les autorités définissent quels sont les tests à effectuer pour l'enregistrement d'un produit chimique et l'autorisation de mise sur le marché d'un médicament.

Pour la recherche fondamentale, durée: env. 3 à 5 ans





Le long chemin de la validation. Pour que de nouvelles méthodes 3R puissent être employées pour des contrôles prescrits par la loi, elles doivent d'abord être validées. On examine si la méthode représente une véritable substitution, aussi fiable que l'expérimentation animale.

caments). Quarante autres méthodes se trouvaient à ce moment-là en phase finale du long processus de validation et 190 au début du processus.

### **Liberté de la recherche fondamentale**

Toutes ces méthodes évaluées par l'ECVAM n'ont cependant pratiquement aucune importance pour la recherche fondamentale universitaire ou la recherche appliquée de l'industrie. En effet, dans ce cas, ni la validation ni le choix de la méthode 3R ne sont prescrits. C'est la

liberté de la science qui s'applique. Les méthodes sont diffusées par publication dans des revues scientifiques, de sorte que chaque chercheur peut les essayer, les contrôler et les améliorer. Dès qu'une méthode a été publiée dans une revue scientifique, elle est du domaine public et les autorités peuvent s'y référer.

La mise en œuvre dans la pratique de méthodes publiées a lieu en Suisse via une procédure officielle d'autorisation: si un chercheur remplit une demande d'autorisation pour une expérience sur les

animaux, il doit dire s'il existe pour cette problématique une méthode sans animaux ou moins contraignante. Si le chercheur oublie une méthode, l'organe d'autorisation le lui fait remarquer et lui demande pourquoi il n'a pas envisagé cette méthode. Les autorités ne peuvent pas forcer le chercheur à employer une certaine méthode, mais l'expérience ne sera alors probablement pas autorisée sous cette forme.

—  
<http://ecvam.jrc.cec.eu.int>



# Un personnel bien formé fait de meilleures expériences animales

L'un des plus grands progrès réalisés dans l'expérimentation animale a eu lieu au niveau de la formation. Toute personne qui travaille aujourd'hui en Suisse avec des animaux de laboratoire a suivi une formation fondée et doit se perfectionner régulièrement.



Depuis 1999, une Ordonnance de la Confédération règle les exigences régissant la formation et le perfectionnement des personnes qui effectuent ou supervisent des expériences sur les animaux. La formation comprend en plus d'une formation biomédicale de base des connaissances dans le domaine 3R. «Un personnel mieux formé fait de meilleures expériences. Il s'agit sans doute de l'un des plus grands progrès réalisés dans le domaine de l'expérimentation animale au cours des dix dernières années», dit Peter Maier, conseiller scientifique de la Fondation Recherches 3R. Mieux formé en effet, le personnel s'occupe des animaux de laboratoire en ayant mieux conscience de ses responsabilités.

Une formation obligatoire d'une semaine porte sur les connaissances de base en expérimentation animale. Au cours de cette formation, on s'exerce dans la pratique à manipuler les animaux et on apprend également quels sont les avantages et les limites des méthodes in vitro.

## Apprendre sur Internet

Pour le perfectionnement personnel des expérimentateurs et des responsables d'expériences, la Fondation Recherches 3R a mis au point en 2004 un programme d'apprentissage sur Internet, le «3R Training Course». Cet outil disponible en allemand et en anglais permet d'approfondir ses connaissances sur les méthodes 3R. Ce programme a été reconnu par l'association des vétérinaires cantonaux. Il est actualisé en permanence et permet aussi de passer un examen via Internet.

<http://3R-training.tierversuch.ch>

On accorde aujourd'hui une grande importance à la formation et au perfectionnement des personnes qui travaillent avec des animaux de laboratoire.



«3R est un concept et non une doctrine.»

Peter Maier,  
Université de Zurich,  
Fondation Recherches 3R



Par le passé, les débats sur l'utilisation des principes des 3R ont souvent eu lieu de manière doctrinaire. Aujourd'hui, le ton est plus détendu. Le personnel bien formé peut décider si et quelles expériences sur les animaux sont nécessaires pour répondre à une question d'importance scientifique. Bien souvent, l'expérimentation animale combinée à des méthodes in vitro mène aux meilleurs résultats. «3R est un concept et non une doctrine», explique Peter Maier. Dans l'idéal, on parvient à rassembler suffisamment d'informations par des méthodes in vitro pour pouvoir se passer de l'expérimentation animale.

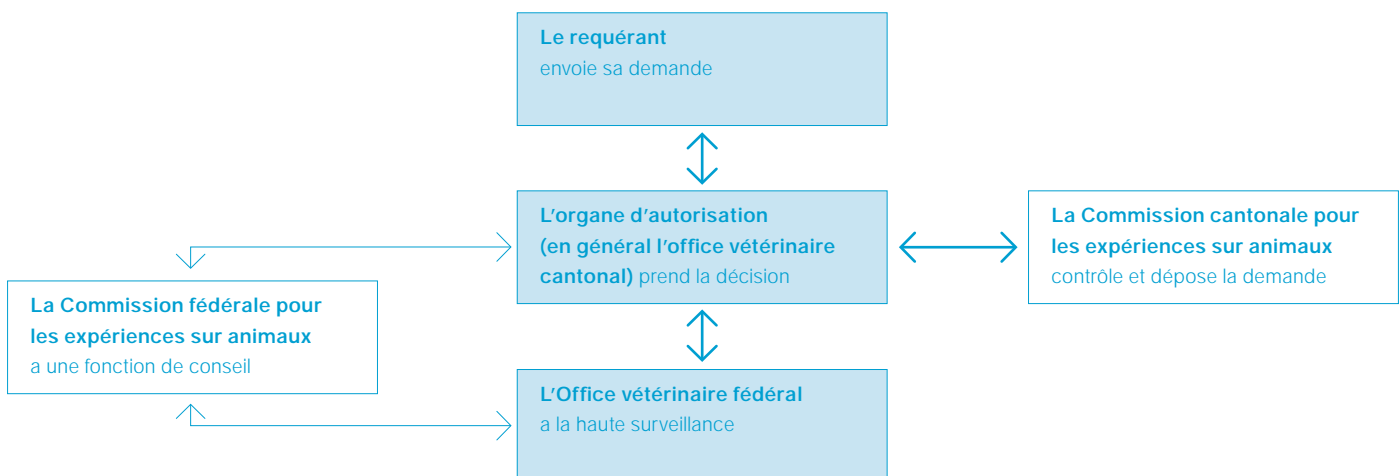
Les responsables d'expériences apprennent aussi au cours de la formation que ni une expérience sur les animaux ni une

méthode de substitution ne peuvent offrir une sécurité à 100%. Toutes les données obtenues sur les rongeurs ne peuvent pas être vérifiées sur l'homme. Par exemple, les tests portant sur la dose toxique aiguë ne peuvent évidemment pas être réalisés sur l'homme. Les chercheurs ne peuvent dans un tel cas que faire une estimation approximative. Il arrive ainsi parfois que des substances testées sur les animaux et estimées sûres provoquent ensuite des effets secondaires imprévus lors des essais cliniques sur l'homme. Le problème est entre autres que les effets secondaires humains, tels que sueurs, étourdissements ou nausées ainsi que les réactions allergiques individuelles ne peuvent pratiquement pas être étudiées sur l'animal.

La formation de base se poursuit par des perfectionnements réguliers. Ceux-ci sont également soumis à un règlement et les offices vétérinaires cantonaux les coordonnent et les surveillent. Tous les responsables d'expériences et expérimentateurs doivent suivre au moins une journée de perfectionnement par an pour se tenir au courant. Ces personnes sont des vétérinaires, des biologistes, des médecins, des biochimistes, des laborantins en biologie et des gardiens d'animaux. Ils travaillent dans des universités, des hautes écoles spécialisées, dans l'industrie pharmaceutique ou dans des instituts qui réalisent pour des tiers des expériences sur les animaux.

[www.bvet.admin.ch/themen/tierschutz](http://www.bvet.admin.ch/themen/tierschutz)

## Comment se déroule une procédure d'autorisation?



### La requête en tant que contrôle de qualité

Au cours de la formation, on attache de l'importance à ce que les responsables d'expériences apprennent à décrire et justifier correctement les expériences sur animaux. Avant toute expérience sur animaux, il faut remplir une requête complète qui expose l'objectif et les méthodes. Le chercheur doit également peser les intérêts (inconvenients pour l'animal/acquisition de connaissances pour l'homme) et en faire état. Ainsi, la requête est un instrument précieux qui oblige le chercheur à se remettre en question: quel est l'objet précis de mon étude, quelle est ma méthode? Le chercheur doit

donc réfléchir dans les moindres détails à la manière dont il veut procéder, par exemple pour le traitement de la douleur. La Commission cantonale pour les expériences sur animaux contrôle la requête et dépose la demande. S'il n'y a pas de critique, l'expérience est autorisée. Cette procédure permet d'assurer et de légitimer la qualité et la nécessité de l'expérience. Une telle procédure dépendant d'experts externes est unique en recherche fondamentale et n'existe dans aucun autre secteur de la recherche.

# La mondialisation des 3R

L'idée des 3R est mondiale: de nombreux pays industrialisés respectent ces principes. Dans plusieurs pays d'Europe, les autorités, les associations de défense des animaux, l'industrie et la science se sont regroupés au sein d'une organisation 3R.

Lorsqu'il s'agit de la réalisation d'expériences sur les animaux, on constate des différences plus ou moins grandes, culturelles entre autres, d'un pays à l'autre: dans la plupart des pays européens et des pays développés sur d'autres continents, le degré de gravité escompté pour les animaux de laboratoire est indiqué dans la requête par un chiffre ou une lettre. En Suisse, on déclare même la contrainte effectivement subie par les animaux à l'Office vétérinaire fédéral à la fin de chaque année. Les anglais par exemple n'ont pas encore de système d'évaluation du degré de gravité d'une expérience sur animaux. Aux Etats-Unis, les rongeurs

ne sont pas compris dans la loi sur la protection des animaux Animal Welfare Act; en Suisse, les rongeurs représentent 90% des animaux de laboratoire. Certains pays tels que la Suisse sont réputés pour leurs contrôles réguliers des prescriptions et des laboratoires dans le secteur de l'expérimentation animale. D'autres, par exemple certains pays en développement, n'ont pas de règlements ou les appliquent de manière moins sévère.

## Une plate-forme pour l'échange des idées

Dans plusieurs pays d'Europe, des organisations se sont formées au sein des-

quelles sont regroupés les quatre groupes d'intérêts que sont l'industrie, les autorités, l'enseignement supérieur et les associations de défense des animaux pour parvenir à un processus commun au sujet des 3R. L'organisation faitière de ces organisations 3R s'appelle Ecopa (European Consensus-Platform for Alternatives) et siège en Belgique. L'Ecopa est une plate-forme pour l'échange d'idées et d'informations. Elle a été créée en automne 2002 avec le soutien actif de la Fondation Recherches 3R. Le but de l'Ecopa est entre autres de coordonner les grands de la recherche sur les méthodes 3R. L'Ecopa assure également le

---

## Le programme de contrôle des substances chimiques REACH

Au cours des prochaines années, l'UE prévoit de contrôler le degré de toxicité pour la santé et l'environnement de 30 000 substances chimiques. Pour la majorité des substances chimiques mises sur le marché avant 1981, ces données font défaut. Par conséquent, elles présentent un certain risque pour l'homme et l'environnement. Toutes les substances fabriquées en UE ou importées vers l'UE à raison de plus d'une tonne par an vont être testées. Elles seront ensuite enregistrées auprès d'une agence européenne des produits chimiques. Les substances particulièrement inquiétantes, par exemple cancérigènes, auront besoin d'une autorisation pour continuer à être utilisées.

Ce programme, appelé REACH (acronyme anglais d'enregistrement, évaluation et autorisation des substances chimiques) coûte entre 4 et 8 milliards d'euros et commence en 2008. Il est positif du point de vue du consommateur, mais a des conséquences graves pour les animaux de laboratoire. REACH va faire nettement augmenter le nombre d'animaux utilisés pour des tests de toxicité au cours des dix années à venir. Les premières

évaluations estimaient qu'on aurait besoin de 60 millions d'animaux. Aujourd'hui, on estime qu'au moins 3 à 4 millions seront nécessaires. Pour REACH, il faut donc réduire autant que possible les expériences sur animaux et promouvoir la recherche sur le développement et la validation de méthodes de substitution allant dans le sens des 3R. Comme il est prévu de commencer les expériences sur animaux à partir de 2011, il reste un peu de temps pour élaborer et contrôler des méthodes 3R adéquates. L'UE a débloqué 80 millions d'euros pour des projets de recherche en ce sens.

Ces méthodes sont ensuite validées par l'ECVAM. Thomas Hartung, directeur de l'ECVAM, estime que les méthodes de substitution permettront de réduire de moitié le nombre d'animaux utilisés dans le cadre de REACH. 20% de réduction supplémentaires seront obtenus en utilisant des méthodes informatiques.

[http://ec.europa.eu/environment/chemicals/reach/reach\\_intro.htm](http://ec.europa.eu/environment/chemicals/reach/reach_intro.htm)

## Diffusion de l'idée des 3R en Europe

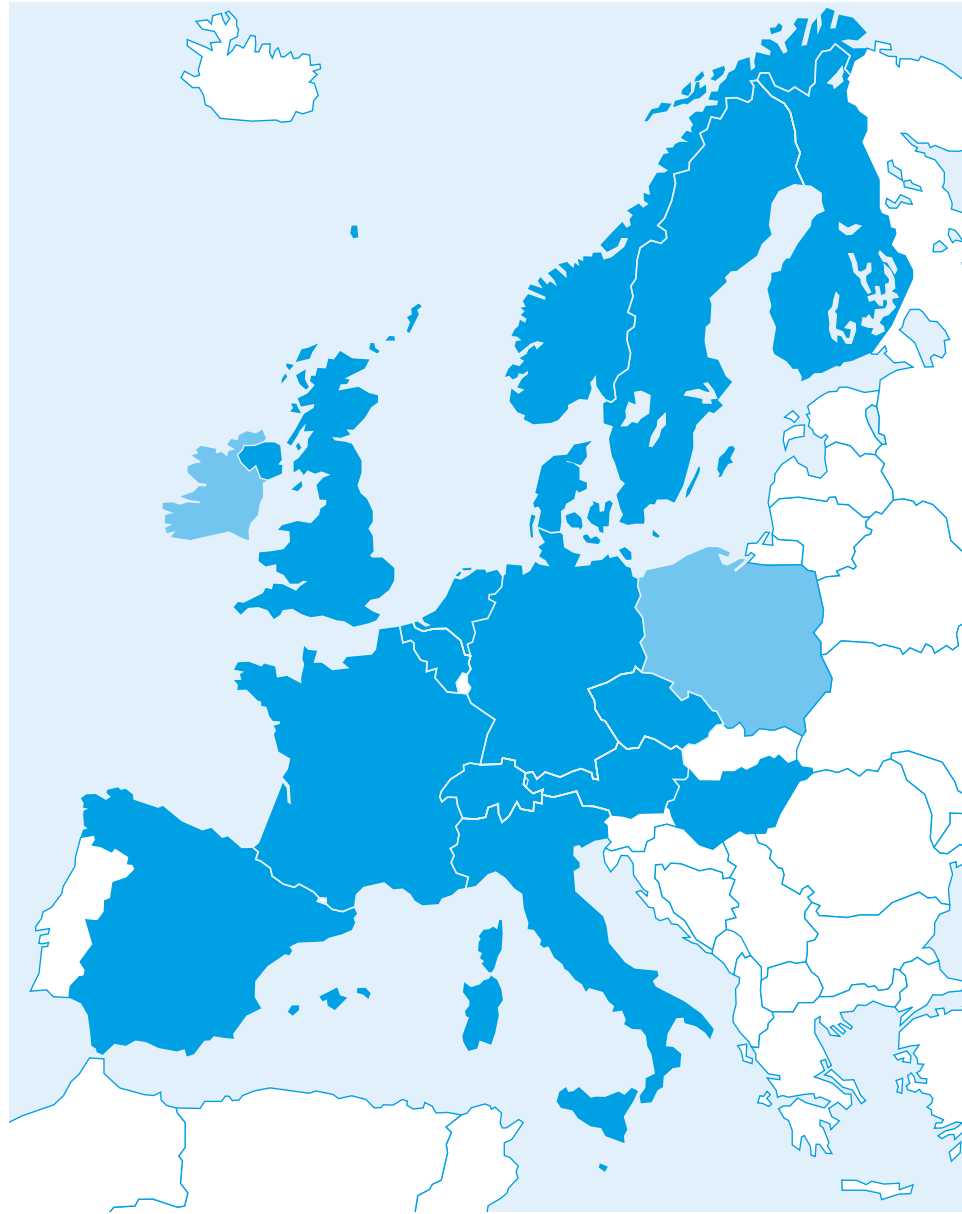
contact avec des organisations similaires au Japon et aux Etats-Unis.

Mi-2007, 15 pays étaient membres: l'Allemagne, l'Autriche, la Belgique, le Danemark, l'Espagne, la Finlande, la France, la Grande-Bretagne, la Hollande, la Hongrie, l'Italie, la Norvège, la République tchèque, la Suède et la Suisse (voir carte).

Une autre organisation est l'ECVAM, le centre européen de validation des méthodes de substitution (voir également encadré en page 30). L'ECVAM a pour but d'accroître l'acceptation de la recherche sans animaux et de promouvoir au niveau européen la validation indépendante de tests adéquats. En outre, l'ECVAM a une banque de données qui comprend des informations détaillées sur toutes les méthodes déjà validées.

Le pendant américain de l'ECVAM est l'ICCVAM (Interagency Coordinating Committee on the Validation of Alternative Methods). Cette organisation a été créée en 1997 et a des buts similaires à ceux de l'ECVAM.

[www.ecopa.eu](http://www.ecopa.eu)



L'Ecopa est l'organisation faitière de toutes les organisations 3R nationales.

■ Membres à part entière de l'Ecopa  
■ Membres associés de l'Ecopa



Le siège de l'ECVAM à Ispra, Italie. L'ECVAM est une institution de la Commission européenne.

Thomas Hartung, Université de Constance/ECVAM

# Un idéal et ses succès

Depuis 1987, la Fondation Recherches 3R soutient des projets de recherche dont le but est d'élaborer des méthodes sans animaux de laboratoire. Jusqu'à mi-2007, 108 projets ont été soutenus. Certains projets mis en œuvre ont permis d'épargner d'innombrables animaux.

En automne 1985, un groupe parlementaire pour les questions relatives à l'expérimentation animale se forma, en particulier à l'initiative de la conseillère nationale Susi Eppenberger et du conseiller national Hugo Wick. Ceci eut lieu suite aux longs débats relatifs à l'initiative populaire fédérale «pour la suppression de la vivisection», rejetée par votation populaire le 1<sup>er</sup> décembre 1985, et à la tentative suivante, l'initiative populaire fédérale «pour l'abolition de l'expérimentation animale et de la vivisection», qui n'aboutit pas. Ce groupe de travail rechercha une voie permettant de rassembler les cercles intéressés de la politique, de l'administration, de la protection des animaux et de l'industrie pour résoudre les problèmes de manière objective. «Nous voulions faire quelque chose pour les animaux de laboratoire sans pour autant faire fuir l'industrie pharmaceutique hors de Suisse», raconte Hugo Wick, ancien con-

seiller national PDC et président de la Fondation Recherches 3R de 1995 à 2007.

C'est ainsi que se concrétisa l'idée du «pool financier 3R», afin d'encourager la recherche sur les méthodes 3R par le biais de fonds de la Confédération et de l'industrie pharmaceutique pratiquant la recherche, représentée par Interpharma.

## Des fonds pour la recherche depuis 20 ans

La Fondation Recherches 3R soutient des projets de recherche extrêmement divers, dans la mesure où ils ont pour but de nouvelles approches prometteuses de remplacement, réduction ou amélioration des expériences sur animaux. Aujourd'hui, l'application des principes des 3R dans le domaine de la recherche biomédicale et de l'élaboration de médicaments est particulièrement importante.

C'est là que sont utilisés la plupart des animaux et on a donc besoin de chercheurs qui se concentrent sur la réponse à une question scientifique tout en étant prêts à élaborer de nouvelles méthodes 3R au sein de leur projet de recherche. «C'est là que la Fondation peut soutenir les chercheurs et encourager de nouvelles idées», explique Peter Maier, conseiller scientifique de la Fondation Recherches 3R. Le soutien apporté par la Fondation Recherches 3R vient souvent en complément de fonds scientifiques, tels que le Fonds national suisse.

La Fondation attache beaucoup d'importance à ce que les données de recherche soient publiées une fois que les projets sont achevés. C'est la seule manière de garantir que les connaissances acquises parviennent aux cercles de chercheurs concernés et soient prises en compte par la suite.

---

## Grandes étapes

■ Depuis sa création en 1987, la Fondation a accepté 108 projets de recherche et a investi environ 15 millions de francs dans leur soutien (état: mi-2007). Une liste des projets ainsi que leur description en anglais, y compris buts, méthodes et résultats, est accessible sur Internet. Chaque année, environ cinq projets en moyenne sont acceptés, lesquels sont généralement soutenus pendant deux à trois ans.

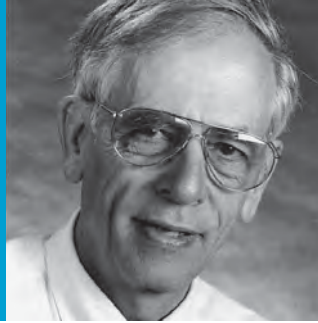
■ Depuis 1994, les projets de recherche achevés avec succès sont présentés dans un petit bulletin d'information illustré, le «3R-Info-Bulletin». Jusqu'à mi-2007, 36 bulletins ont été publiés. Ils sont envoyés à plus de 1000 personnes intéressées et sont aussi présentés sur Internet.

■ En 1995, 29 laboratoires différents en Suisse ont validé la fabrication d'anticorps monoclonaux à l'aide de bioréacteurs au lieu de souris et ont ainsi permis à cette méthode *in vitro* (méthode dans un tube à essai) de s'imposer.

■ Depuis 2005, la Fondation propose un cours de formation sur Internet pour le perfectionnement personnel et spécialisé des personnes qui effectuent ou supervisent des expériences sur animaux. A l'aide de textes, de photos, de liens et de documents, les personnes intéressées peuvent s'informer de sujets en rapport avec 3R et des prescriptions légales.



Hugo Wick est membre fondateur de la Fondation Recherches 3R et en a été le président pendant 12 ans.



## Le Conseil de Fondation réunit différents intérêts

Le Conseil de Fondation composé de neuf personnes comprend, conformément aux statuts de la Fondation, deux représentants de l'industrie, de la protection des animaux et de l'Office vétérinaire fédéral et trois représentants du groupe parlementaire pour les questions relatives à l'expérimentation animale.

C'est lui qui dirige la Fondation Recherches 3R. Il est soutenu dans ses activités par le conseiller scientifique et le secrétariat. Il décide d'accepter ou de rejeter les contributions à des projets de recherche selon des directives et priorités qu'il a définies, sur demande du Comité d'experts.

## Le Comité d'experts est le garant d'une évaluation scientifique

Le Comité d'experts se compose d'au moins quatre (aujourd'hui: neuf) scientifiques de différents domaines. En font partie des spécialistes de l'enseignement supérieur, de l'industrie, de l'administration et de la protection des animaux. En tant que spécialistes de leur domaine spécifique, ils garantissent en commun une évaluation scientifique et équilibrée des projets de recherche soumis. La présidence est assurée par le conseiller scientifique de la Fondation.

Le Comité d'experts évalue les requêtes de projets de recherche et soumet au Conseil de Fondation une demande soit d'acceptation du projet et de garantie d'une certaine somme, soit de rejet de la requête.



Hans Wyss

Office vétérinaire fédéral



Susanne Scheiwiller

Animalfree Research



### Autorités

## Encourager les méthodes 3R: un mandat légal

L'Office vétérinaire fédéral a pour mandat légal de promouvoir la reconnaissance et l'application des méthodes 3R. L'encouragement des méthodes 3R fait partie des priorités de la recherche de l'OVF. C'est la Fondation Recherches 3R qui s'en charge en grande partie. L'OVF s'engage dans cette Fondation par des contributions financières annuelles ainsi qu'en participant au Comité d'experts et au Conseil de Fondation.

Mais quel est l'effet du travail de la Fondation pour la protection des animaux? Les projets soutenus par la Fondation s'orientent fortement vers la recherche fondamentale. Les résultats obtenus sont les éléments d'une mosaïque qui entraînent des améliorations ponctuelles dans la recherche et, indirectement et ultérieurement, ont un impact sur l'Ordonnance sur la protection des animaux ou sur les aides à l'exécution. Prenons deux exemples: suite à un projet soutenu par la Fondation, une directive de l'Office fédéral sur la production d'anticorps monoclonaux a été élaborée. En Suisse, ces anticorps ne sont pratiquement plus produits en utilisant des animaux. Un autre projet 3R a permis de mettre en évidence par PCR des infections causées par certaines toxines de bactéries (toxines de Clostridium). Auparavant, cette mise en évidence n'était possible que par expérimentation animale.

### Protection des animaux

## Le «refinement» ne suffit pas

A partir du milieu des années 70, le principe des 3R a entraîné une transformation de la relation entre les associations de défense des animaux et la science, car il a permis un dialogue entre les chercheurs et les défenseurs des animaux. A ce jour, le principe des 3R a fait son entrée dans divers textes de lois et, près de 50 ans après son introduction par Russell et Burch, on peut se demander dans quelle mesure les 3R sont effectivement appliqués dans les laboratoires de recherche en Suisse. Au niveau du «refinement», les nouvelles sont bonnes. L'amélioration de la détention des animaux, en environnement «enrichi», a fait son entrée dans de nombreux laboratoires. L'utilisation d'analgésiques et l'interruption des expériences lorsque les animaux souffrent trop sont aussi des principes aujourd'hui rarement remis en question par les chercheurs en Suisse. Mais qu'en est-il de la réduction ou du remplacement de l'expérimentation animale? A cet égard, il reste encore fort à faire. En particulier en recherche fondamentale, l'expérimentation animale est bien souvent la méthode privilégiée. La disposition à passer à des méthodes de substitution est plutôt faible dans ce domaine – probablement entre autres parce que les chercheurs craignent de rater des informations importantes et qu'un test in vitro promet moins d'appréciation dans les cercles scientifiques. Le fait d'étudier des processus complexes dans un organisme intact est encore très bien accepté. Bien souvent, les personnes qui dirigent les expériences sur animaux ne sont pas familiarisées aux méthodes in vitro.

Près de 50 ans après l'introduction du principe des 3R, il est temps d'accorder aux méthodes de substitution la place qu'elles méritent, et ce non seulement pour des raisons de protection des animaux, mais aussi pour des raisons scientifiques.

**Thomas Cueni**  
Interpharma



**Max Gassmann**  
Université de Zurich



## Industrie

### Le dialogue plutôt que la confrontation

La contradiction entre utilité de la recherche et protection des animaux marque le débat sur l'expérimentation animale. La création de la Fondation Recherches 3R il y a 20 ans a été une action pionnière à l'échelle européenne. L'engagement commun de la politique, des associations de défense des animaux, des autorités et de l'industrie pharmaceutique au sein de la Fondation a permis de réunir autour d'une table différents intérêts dans un même but: protéger les animaux en encourageant la recherche dans le domaine 3R. Cette recherche devait apporter des connaissances de nature à améliorer les résultats tout en diminuant les contraintes pour les animaux de laboratoire.

Le soutien de la Fondation par Interpharma est le signe que l'industrie fait profession de n'effectuer l'expérimentation animale que dans la mesure où elle est nécessaire pour l'acquisition de connaissances scientifiques. Par conséquent, les expériences représentant des contraintes pour les animaux doivent être limitées à l'indispensable. En dépit des progrès accomplis, force est de constater que de nombreuses maladies sont encore incurables et que le contrôle de l'innocuité et de l'efficacité des médicaments continue à exiger des expériences sur animaux, pour la sécurité des patients. Le travail de la Fondation Recherches 3R n'est pas achevé. Il continue à être placé sous le signe du dialogue et de la coopération, et non de la confrontation.

## Science

### Le but compte en recherche fondamentale

Les expériences sur animaux sont nécessaires dans de nombreux domaines de la recherche biomédicale et dans de nombreux instituts universitaires. Y participent des scientifiques, en particulier biologistes, vétérinaires, médecins ainsi que laborantins en biologie, candidats au doctorat et assistants.

Il est dans la nature de la recherche que la question posée, c'est-à-dire le but du projet, ait la plus grande priorité. La responsabilité de la méthode permettant au mieux d'atteindre le but scientifique incombe au chercheur, car lui incombent aussi les conséquences du succès ou de l'échec. C'est lui qui doit décider si une expérience sur l'animal est nécessaire et si le but peut être atteint par d'autres moyens.

Le principe des 3R est le meilleur cadre disponible pour prendre cette décision. Les 3R sont une condition nécessaire pour pratiquer une bonne recherche ou pour obtenir des résultats reproductibles. On a donc toujours besoin, en particulier dans les hautes écoles, d'une formation et d'un perfectionnement d'un bon niveau dans le domaine des animaux de laboratoires, afin d'améliorer l'expérimentation animale et d'actualiser les connaissances sur les éventuelles méthodes de substitution. Les hautes écoles considèrent comme une priorité de relever ce défi.

## La Fondation Recherches 3R

3R signifie replace (remplacement), reduce (réduction), refine (raffinement, réforme). Il s'agit d'une stratégie consistant à remplacer l'expérimentation animale, à en diminuer le nombre ou à réduire les contraintes pour les animaux. La Fondation Recherches 3R soutient des projets de recherche dans le domaine 3R. Elle est une œuvre commune du groupe parlementaire pour les questions relatives à l'expérimentation animale (politique), d'Interpharma (association des entreprises pharmaceutiques suisses pratiquant la recherche) et de la Fondation Animalfree Research (anciennement FFVFF). Le financement a lieu à parts égales par des contributions de Interpharma et de l'Office vétérinaire fédéral.

Pour l'évaluation des projets de recherche proposés et des requêtes de subsides, le Conseil de Fondation a mis en place un Comité d'experts. En font partie des scientifiques réputés de l'enseignement supérieur et de l'industrie ainsi que des représentants de l'administration et des associations de défense des animaux.

Les activités de recherche soutenues par la Fondation Recherches 3R au cours des dernières années ont contribué à élaborer des méthodes nouvelles et à réduire ainsi le nombre d'expériences sur animaux. Depuis sa création en 1987, la Fondation a soutenu plus de 100 projets de recherche.

