

Le scandale des alternatives validées, mais non utilisées

La politique européenne en matière de régulation de l'expérimentation animale est considérée comme l'une des plus strictes au monde. Sans doute pas suffisamment puisqu'il existe des alternatives aux tests sur les animaux validées par les organismes officiels, mais non utilisées par les industriels. Un dysfonctionnement majeur qui doit être pris en compte par les instances européennes.

Nous avons compilé des articles parus dans *Altex*, revue scientifique de référence dans le domaine des « alternatives » aux expériences animales, pour démontrer à quel point il est long et difficile de valider des alternatives et surtout que la validation n'implique pas nécessairement son utilisation obligatoire.

Test d'innocuité des vaccins inactivés contre la rage : une « demi-alternative » à moitié ignorée...

La rage est une ancienne maladie contagieuse grave : une affection virale du système nerveux central. Les vaccins humains et animaux sont cruciaux. Comme les vaccins sont produits dans des organismes vivants (œufs), chaque lot doit être contrôlé, car des variations peuvent intervenir.

Le test de neutralisation au sérum d'anticorps de souris pour les tests d'innocuité de vaccins inactivés antirabiques a été introduit en 2013 dans la pharmacopée européenne. Ce test, le SNT (Serum Neutralization Test) qui doit remplacer le test d'innocuité in vivo NIH (sur souris) est en accord avec les critères européens de réduction de l'expérimentation animale.

Le test de base, le NIH, représente un problème éthique certain, puisqu'il s'agit d'infecter un groupe de souris par la rage et d'immuniser la moitié de ce groupe.

Très invasif, mais utilisé depuis plus de 50 ans, le NIH est largement considéré comme un stan-

dard alors que, jamais validé, il connaît des faiblesses graves sur le plan scientifique.

L'infection artificielle des souris diffère de la réelle situation naturelle.

Exemple : l'infection par voie intracrânienne ne correspond pas à la réalité.

De cela découlent d'importantes variations avec des résultats opposés d'un groupe de souris testées à l'autre.

Le SNT est donc une alternative valable dont la technologie de base est disponible depuis 1996. **Plus rapide et moins douloureuse, elle utilise jusqu'à 85% d'animaux en moins.**

Les 3 étapes définies pour l'utilisation de ce test :

- incorporation dans les exigences réglementaires
 - acceptation par les autorités réglementaires (reproductibilité)
 - utilisation par les industriels
- ont été respectées assez vite.

Les points positifs de cette alternative ont été présentés en 2007 et 2008 et les résultats publiés en 2010 confirment officiellement que le test est pertinent et reproductible.

Des problèmes subsistent

Les tests in vitro et in vivo sont autorisés, mais le choix est laissé à l'appréciation de l'industriel !

S'il reste des imperfections, le SNT (l'alternative), des défauts au niveau du NIH (in vivo) existent aussi, mais sont traités avec complaisance, car les critères de validation d'une alternative sont toujours plus élevés.

La mise en place généralisée est difficile en raison du manque d'harmonisation mondiale des procédures de tests.

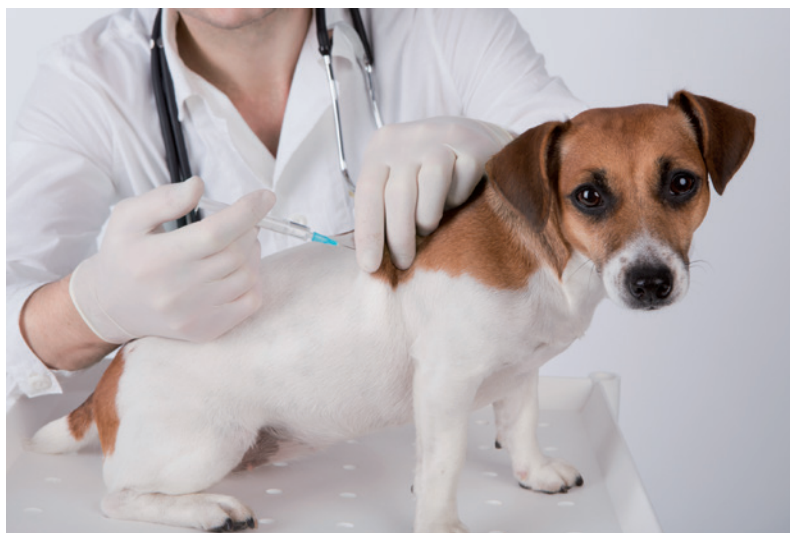
Le test sur souris reste l'option la moins compliquée pour certains fabricants.

Autre problème : certains fabricants ne veulent pas faire de tels efforts pour une technique ne faisant « que » réduire l'expérimentation animale et voudraient passer directement à un test 100% in vitro. Cela pourrait être une bonne politique, mais signifie qu'ils continuent à utiliser le NIH in vivo en attendant une alternative 100% in vitro qui n'existe pas encore, alors que le SNT, permettant une réduction des tests animaux est déjà disponible.

Le test de pyrogénicité ignoré

Une substance pyrogène est une substance susceptible de provoquer une contamination provoquant fièvre et infections. Il s'agit d'un problème de santé publique. Le test de pyrogénicité a donc pour objectif de déterminer que les concentrations en pyrogènes n'excèdent pas la norme dans les dispositifs médicaux, produits cosmétiques et pharmaceutiques.

Un premier test, mené sur des lapins, existe depuis 1912. Si des différences de réactivités existaient (le sang humain diffère de celui du lapin), des alternatives ont été créées depuis.



Notamment, le test pyrogène au "sang total" humain ou de monocytes humains appelé MAT (Monocyte Activation Test) a été décrit pour la première fois dans la revue *Altex* il y a 20 ans.

Il utilise la réponse cytokinique ou cytokine, une fonction du système immunitaire, aux monocytes sanguins pour la détection de la contamination microbiologique **avec la possibilité de remplacer le toujours très utilisé test sur lapins.** Passons rapidement sur le processus de développement et **les efforts colossaux qui ont pris deux décennies.**

Terminé en 2003 il faut attendre 2006 pour obtenir une confirmation de validation ("validation statement") des autorités.

2009-2010 : le test est enfin inscrit dans les procédures de certains organismes (FDA et European Pharmacopoeia), mais pas partout comme au Japon. Toutes ces incroyables occasions manquées, dans la mise en œuvre du test MAT auraient pu sauver la vie de 400 000 lapins chaque année.

Ce test est pourtant la seule solution permettant un test pyrogène

pertinent en thérapie cellulaire, incluant la transfusion sanguine et les instruments médicaux, mais il n'a pas toujours été mis en œuvre par les autorités. Il peut évaluer, au plan quantitatif, le pyrogène atmosphérique de manière pertinente pour l'homme. Le rôle du pyrogène dans les maladies pulmonaires obstructives chroniques, et l'asthme infantile peut être défini pour la première fois permettant d'améliorer la sécurité des maisons et lieux de travail.

Le test MAT propose une technique différente qui résout la détection de substances pyrogènes dans les vaccins.

Aujourd'hui cette alternative efficace aux tests sur animaux, n'est pas totalement appliquée malgré de nouvelles réglementations et a provoqué une hausse de lapins testés.

Pour l'instant le MAT ne soulève qu'un intérêt limité. Pour compliquer les choses, il existe 5 variantes du MAT validées par l'ECVAM (European Center of validation of Alternative Methods).

Aux États-Unis le MAT a été invalidé par un comité de 13 experts.

Pour éviter cette impasse, une autre solution a été trouvée, mais elle reste sans nouvelles des autorités américaines, le sujet n'étant pas "prioritaire".

Pourtant de nombreuses applications positives du MAT ont été confirmées dans le cadre de dialyse (pour insuffisance rénale) transfusions sanguines, analyse de l'atmosphère dans certaines industries en lien avec des maladies respiratoires au travail et dispositifs médicaux, pouvant apporter également des réponses en termes de santé publique.

Globalement le MAT ne reste pas appliqué et actuellement de nombreux lapins continuent à être expérimentés. De plus, sa non-application met en danger la vie de l'homme.

Il n'est pas acceptable que les fabricants ne soient pas plus incités à utiliser les alternatives quand elles existent. La Directive européenne 2010/63 pour la protection des animaux de laboratoire doit être plus ferme. Son objectif n'est-il pas la réduction et le remplacement des tests sur animaux dès que cela est possible ?
A. G.

Histoire d'un rat de laboratoire

Dans l'excellente émission *Cash Investigation* diffusée le 5 octobre sur France 2, nous avons vu le Dr Morin, toxicologue de l'université de Rouen (INSERM), sacrifier un rat afin d'en prélever le cœur et l'exposer à du dioxyde d'azote gazeux à haute dose.

Le but était bien sûr de déterminer l'impact négatif de cette exposition sur le muscle cardiaque de l'animal.

Pourtant dans la *Directive européenne 2010/63/UE relative à la protection des animaux utilisés à des fins scientifiques* l'exigence du **remplacement** des expérimentations animales par des méthodes alternatives est un principe **fondamental**. L'article 12 énonce clairement :

Les animaux ont une valeur intrinsèque qui doit être respectée (...) l'utilisation d'animaux à des fins scientifiques (...) devrait donc être envisagée uniquement lorsqu'il n'existe pas de méthodes alternatives.

Ceci peut sembler quasi anecdotique pour qui n'est pas acquis à la cause des rats, nous en retirons un constat qui s'ajoute aux

autres constats que nous faisons régulièrement.

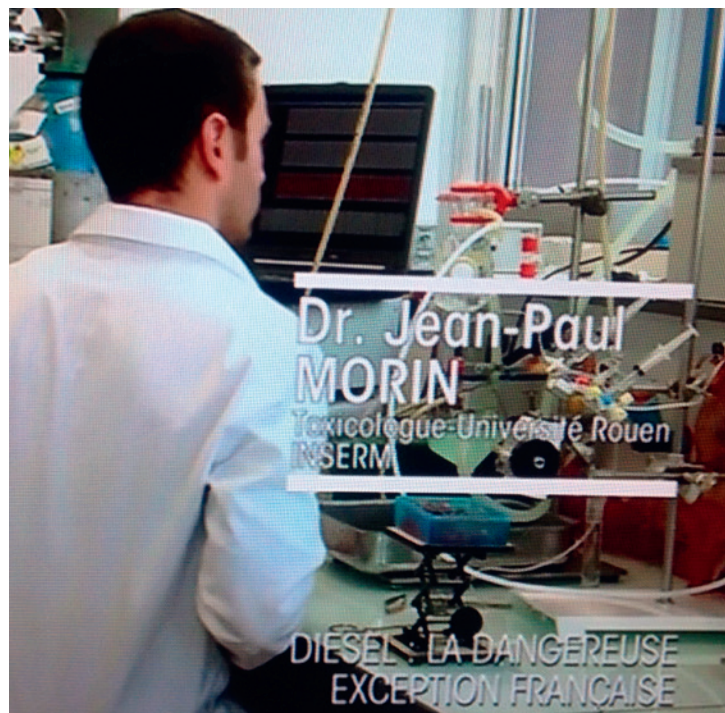
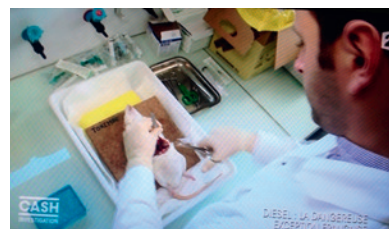
Cette Directive européenne n'a aucun effet sur les pratiques en laboratoire.

Les alternatives existent : des appareils pulsatiles pouvant faire battre un cœur humain ou celui d'un animal mort naturellement et récupéré chez un vétérinaire, ou encore la technologie des mini organes.

Des options étaient donc possibles pour épargner un animal et donc respecter le principe de la Directive : *les animaux ont une valeur intrinsèque qui doit être respectée.*

Une exigence morale et scientifique sans effet dans la réalité. **Pour un cas identifié combien de cas cachés dans les laboratoires ?**

AG



4^e trimestre 2015
N° 79