

FRANCE / EUROPE

LA FRANCE ET LE BIEN-ÊTRE ANIMAL

Le ministère de l'agriculture français a lancé un plan stratégique sur 4 ans sur le bien-être animal. Le plan se compose de 20 actions prioritaires axées autour de la recherche et l'innovation, de la responsabilisation de tous les professionnels, et de la communication avec les citoyens. Parmi les actions concrètes, il faut citer le développement d'une méthode de sexage des embryons dans l'œuf qui fera l'objet d'un soutien public d'environ 4,3 millions d'euros.

<http://agriculture.gouv.fr/nouveau-plan-dactions-en-faveur-du-bien-etre-animal>

BIEN-ÊTRE DES ANIMAUX : LA POSITION ALLEMANDE, SUÉDOISE, DANOISE ET NÉERLANDAISE

L'Allemagne, le Danemark, la Suède et les Pays-Bas ont formulé à l'intention de la Commission européenne des recommandations sur la mise en place d'une plateforme sur le bien-être des animaux. Cette proposition s'inspire de la plateforme européenne sur l'alimentation, l'activité physique et la santé. La mise en place d'une telle plateforme devrait :

- permettre une action coordonnée de la part de tous les acteurs concernés par le bien-être animal,
- faciliter l'échange autour des bonnes pratiques et donner de la visibilité aux initiatives en faveur du bien-être animal,
- promouvoir une réglementation plus uniforme et transparente,
- créer des réseaux et mettre en commun connaissances et informations sur la recherche et développement.

<http://data.consilium.europa.eu/doc/document/ST-5708-2016-INIT/fr/pdf>

DÉVELOPPEMENT ET VALIDATION D'UN ESSAI QUANTITATIF ELISA POUR LE TEST D'ACTIVITÉ DU SÉRUM ANTIRABIQUE ÉQUIN

En cas de morsure par un animal infecté par la rage, l'Organisation Mondiale de la Santé recommande un traitement prophylactique incluant l'administration d'immunoglobulines anti-rabiques humaines ou de fragments $F(ab')_2$ hautement purifiés produits à partir d'immunoglobulines anti-rabiques équines. Selon la réglementation internationale, le contrôle qualité des fragments $F(ab')_2$ requiert un essai d'activité *in vivo* chez la souris (MNT). Cependant, le principe des 3R recommandé par la Directive Européenne sur l'expérimentation animale encourage le remplacement de l'essai *in vivo* par un essai *in vitro*. Dans ce contexte, l'ANSM a développé un essai ELISA quantitatif de type compétitif (c-ELISA) entre les fragments $F(ab')_2$ équins et un anticorps monoclonal reconnaissant la forme native trimérique de la glycoprotéine rabique. Après une étude de validation, le c-ELISA a été appliqué aux lots commerciaux de fragments $F(ab')_2$. Une étude de corrélation avec le test MNT a démontré une similitude entre les deux méthodes ($R = 0,751$). De plus, la méthode c-ELISA, qui ne nécessite pas de réactifs spécifiques d'espèces, a été utilisée pour le test d'activité des immunoglobulines anti-rabiques

humaines comme méthode alternative au test RFFIT, évitant ainsi la manipulation de virus rabique vivant en confinement BSL3. En conclusion, le c-ELISA a démontré son potentiel pour remplacer le MNT et peut-être le RFFIT pour la quantification des immunoglobulines anti-rabiques. Après une optimisation, il pourrait être utilisé pour la quantification des immunoglobulines anti-rabiques provenant d'autres espèces animales, notamment pour l'essai d'immunogénicité chez la souris.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27151880>

LE PRINCIPE DES 3R APPLIQUÉ À LA RÉGLEMENTATION SUR LE MÉDICAMENT VÉTÉINAIRE : UN DOCUMENT DE RÉFLEXION

L'agence européenne du médicament (EMA) a mis en consultation publique un document de réflexion (en anglais) qui illustre la volonté de prise en compte du principe des 3R dans la réglementation sur le médicament vétérinaire.

Ce document décrit les approches 3R qui peuvent déjà être appliquées dans le cadre de la réglementation sur le médicament vétérinaire et ouvre des perspectives sur les opportunités futures dans le domaine du remplacement, de la réduction et du raffinement. Grâce à ce document, l'EMA espère pouvoir stimuler des nouvelles contributions pour le comité des médicaments à usage vétérinaire (CVMP).

La date limite pour la soumission de commentaires a été fixée au 31/10/2016.

http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2016/04/WC500205609.pdf

PUBLICATION DU DEUXIÈME RAPPORT SUR LA MISE EN ŒUVRE DE REACH ET DU CLP

L'agence européenne des produits chimiques (ECHA) a publié en mai 2016 un rapport sur la mise en œuvre du règlement REACH et CLP. Une section du rapport est dédiée à l'utilisation des méthodes alternatives et à une série de préconisations sur le même sujet. Les résultats de cette analyse rétrospective indiquent que :

- 20 % et 75 % des dossiers analysés contenait des études *in vitro* et des prédictions dérivées par lecture-croisée (read-across).
- Le contrôle de conformité des dossiers reste l'outil principal utilisé par l'agence afin de vérifier si l'expérimentation *in vivo* est utilisée en dernier recours.
- Plusieurs nouvelles approches alternatives ne sont pas encore assez mûres pour être utilisées dans un contexte réglementaire. Par conséquent, il est important que les exigences réglementaires soient prises en compte lors du développement de ces méthodes.
- Même si les progrès dans le domaine des méthodes alternatives sont encourageants, certaines études comme les études de toxicité à court terme par administration répétée et les études de reprotoxicité ne peuvent pas encore être remplacées.
- De façon similaire, les prédictions QSAR ne peuvent pas, à elles seules, remplacer les résultats des études toxicologiques qui caractérisent les plus hautes bandes de tonnage.

L'ECHA travaille aussi sur deux nouvelles initiatives. Tout d'abord l'agence est en train de passer en revue ses activités afin d'identifier quelles autres mesures pourraient être prises pour mettre en œuvre le principe des 3R. En second lieu, l'agence est en train de rédiger un rapport sur la validité scientifique et la recevabilité réglementaire des méthodes alternatives. Ces deux actions seront complétées avant la fin de l'année.

En ce qui concerne les préconisations émises par l'agence il faut signaler que :

- Les déclarants devraient mieux décrire leurs considérations sur l'application des méthodes alternatives avant de proposer des nouveaux tests *in vivo*. De plus, les déclarants, et les laboratoires externes sous-traités par ces derniers, doivent mettre en place une veille scientifique afin de connaître les derniers développements en matière de méthodes alternatives et de leur application réglementaire.
- Les Etats membres et leurs autorités compétentes sont invités à renforcer la mise en œuvre des dispositions réglementaires (règlement REACH ou autre dispositif réglementaire) qui encadrent l'expérimentation animale.
- La Commission devrait accélérer la prise en compte de nouvelles méthodes alternatives dans les annexes du règlement REACH. La Commission devrait aussi considérer la possibilité de rendre obligatoire le partage de données sur les analogues structuraux qui peuvent être utilisés lors des prédictions par lecture-croisée.

http://echa.europa.eu/documents/10162/13634/operation_reach_clp_2016_en.pdf

LE PRIX 3R DE L'EPAA

Le Partenariat européen sur les alternatives à l'expérimentation animale (EPAA) lance le Prix 3R 2016. Cette année, l'EPAA accordera un prix de 10 000 € à un scientifique européen travaillant sur le développement ou la mise en œuvre d'alternatives à l'expérimentation animale.

Le prix de l'EPAA est accordé tous les deux ans à un scientifique dont la contribution au principe des 3R (déjà réalisée ou caractérisée par des résultats préliminaires concrets) est jugée exceptionnelle. Le but de ce prix est de promouvoir et encourager la recherche scientifique dans le domaine des 3R. L'échéance pour la participation a été fixée au 23 septembre 2016.

http://ec.europa.eu/growth/sectors/chemicals/epaa/3rs-awards/index_en.htm

VERS UNE SUPPRESSION DES EXPÉRIMENTATIONS *IN VIVO* POUR LES ANTICORPS MONOCLONAUX BIOSIMILAIRES

Les anticorps monoclonaux biosimilaires sont des anticorps presque identiques aux anticorps monoclonaux mis sur le marché (anticorps « innovateurs ») et qui peuvent être commercialisés par d'autres producteurs lorsque le brevet du produit original n'est plus valable. Le Dr Chapman et ses coauteurs remettent en question la nécessité de faire à nouveau recours à l'expérimentation animale pour la caractérisation des anticorps biosimilaires. En effet, plusieurs données obtenues chez l'animal (notamment des primates) et l'homme sont déjà disponibles pour le produit original.

Plus en particulier, l'article publié par le Dr Chapman montre que dans plusieurs cas les études *in vivo* ont été conduites afin de satisfaire les exigences réglementaires plutôt que d'être motivées par des considérations scientifiques. D'après les auteurs de l'article les autorisations de mise sur le marché pourraient se baser de façon exclusive sur les données existantes pour les anticorps « innovateurs » et sur des études *in vitro*. Compte tenu du fait que 75 % des études *in vivo* (jusqu'à 36 animaux par étude) sont conduites chez les primates non-humains, l'approche proposée par le Dr. Chapman pourrait avoir un impact majeur sur le bien être animal.

<http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/19420862.2016.1145331>

UN ASSISTANT EN LIGNE POUR LA CONCEPTION DE PLAN D'EXPÉRIENCE

Le centre britannique NC3R met à disposition un outil en ligne afin d'aider les chercheurs lors de la mise en place de leurs plans d'expérience. Cet outil permet aux expérimentateurs d'identifier le nombre minimal d'animaux compatible avec les objectifs scientifiques (ex. puissance statistique) de leur recherche.

<https://www.nc3rs.org.uk/experimental-design-assistant-eda>

ÉVITER LES ESSAIS DE TOXICITÉ CHRONIQUE CHEZ LE POISSON

Le laboratoire de référence de l'Union Européenne pour les alternatives à l'expérimentation animale a publié un rapport qui résume les avis scientifiques sur les stratégies qui permettent d'éviter les essais de toxicité chronique chez le poisson sur la base d'approches de données existantes et des méthodes d'extrapolation. Ce rapport examine la possibilité d'éviter ces essais en fonction d'extrapolations inter-espèce et des relations existantes entre effets aigus et chroniques.

<https://eurl-ecvam.jrc.ec.europa.eu/avoiding-chronic-fish-toxicity-testing>

RÈGLEMENT REACH : LES TESTS *IN VITRO* ET *IN CHEMICO* S'AFFIRMENT

Les annexes du règlement REACH seront prochainement modifiées afin de remplacer les tests *in vivo* par des tests *in vitro* ou *in chemico* pour les tests d'irritation/corrosion cutanée, lésions oculaires graves/irritation oculaire, toxicité aiguë et sensibilisation cutanée. Ces modifications s'imposent afin de refléter les avancées scientifiques effectuées ces dernières années dans le domaine des méthodes alternatives. Les propositions de modification des annexes de REACH sont en ligne sur le site de la commission européenne.

http://ec.europa.eu/environment/chemicals/news_en.htm

INTERNATIONAL

UNE BARRIÈRE HÉMATO-ENCÉPHALIQUE SUR PUCE

Une équipe de l'Institut Wyss, dirigé par le Dr Donald Ingber a développé un modèle sur puce pour la barrière hémato-encéphalique qui rend possible l'étude de cette barrière physiologique sans passer par l'expérimentation animale. Cette innovation technologique a permis l'étude des réponses neuro-inflammatoires induites par une protéine (cachexine)

qui est associée à plusieurs pathologies dont la maladie d'Alzheimer. Cette étude a montré que les péricytes et les astrocytes peuvent réguler la production de protéines neuroprotectives et que ces deux types cellulaires peuvent aussi avoir des réponses indépendantes lors d'une inflammation.

<http://wyss.harvard.edu/viewpressrelease/249/>

LES MÉTHODES ALTERNATIVES S'AFFIRMENT EN INDE

Le gouvernement indien a affiché la volonté d'interdire les essais d'irritation oculaire chez le lapin. Le comité consultatif nommé par l'agence indienne de contrôle du médicament a estimé que, le contexte indien de toxicologie réglementaire doit s'harmoniser avec les tendances internationales qui visent à remplacer les essais sur les animaux avec des alternatives validées.

<http://economictimes.indiatimes.com/news/science/rabbits-may-soon-be-spared-from-clinical-tests-in-india/articleshow/52547997.cms>

RÉUNION DU COMITÉ CONSULTATIF AMÉRICAIN SUR LES MÉTHODES ALTERNATIVES EN TOXICOLOGIE

Le comité consultatif américain sur les méthodes alternatives en toxicologie (SACATM) tiendra une réunion le 27 et 28 septembre 2016 à l'institut national de la santé environnementale (NIEHS) afin de proposer des préconisations relatives à la mise en place d'une stratégie nationale sur la règle des 3R dans le contexte de la toxicologie réglementaire. La participation à la réunion du SACATM est gratuite et sera diffusée sur Internet.

<http://ntp.niehs.nih.gov/go/32822>

UNE STRATÉGIE *IN SILICO*/*IN VITRO* APPLIQUÉE À L'ÉVALUATION DE LA SÉCURITÉ DES MÉDICAMENTS POUR LE CŒUR

En correspondance du dixième anniversaire de deux lignes directrices publiées par la Conférence Internationale sur l'Harmonisation des exigences techniques pour l'enregistrement des médicaments à usage humain (ICH), le Dr Davies publie un article de revue qui analyse la mise en œuvre d'un nouveau paradigme *in silico*/*in vitro* pour l'évaluation de la sécurité des médicaments pour le cœur. Cet article décrit les études conduites par l'initiative CiPA (Comprehensive *in vitro* proarrhythmia assay) qui visent à caractériser par des approches *in silico* et *in vitro* les phénomènes toxicologiques qui, à partir d'une perturbation du fonctionnement des canaux ioniques, conduisent à une perturbation pathologique des électrocardiogrammes.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26891981>

L'ÉVALUATION *IN VITRO* DU POTENTIEL DE SENSIBILISATION CUTANÉE DES DISPOSITIFS MÉDICAUX

La section spécialisée dédiée aux dispositifs médicaux de la société de toxicologie a attribué le prix du meilleur article publié à Kelly Coleman et coauteurs pour leur travail sur une méthode *in vitro* (SenCeeTox) pour l'évaluation du potentiel de sensibilisation cutanée des dispositifs médicaux. L'objectif du travail récompensé par le prix était de mettre au point une méthode de détection particulièrement sensible. En effet, les méthodes validées par l'EURL-ECVAM ont été qualifiées en fonction de substances pures tandis que les dispositifs médicaux sont caractérisés par la présence de mélanges chimiques fortement dilués.

Les auteurs de l'article ont évalué dix substances sensibilisantes incorporées à faible concentration dans des dispositifs médicaux grâce à des tissus EpiDerm3D, des tests de viabilité cellulaire, de réactivité vis-à-vis du glutathion et de données d'expression génique (Nrf2/ARE). Les résultats de l'évaluation sont encourageants (une précision égale à 80 % par rapport aux résultats *in vivo*) et les auteurs proposent aussi un algorithme qui permettant d'extrapoler les effets *in vivo* à partir des leurs données *in vitro*.

<http://online.liebertpub.com/doi/pdf/10.1089/aivt.2015.0007>

ALTERNATIVES AU TEST HIST POUR LES VACCINS PERTUSSIS ACELLULAIRE : PROGRÈS ET DÉFIS POUR LE REMPLACEMENT

Rapport d'un atelier international

J. Arciniega, L. Wagner, R. Prymula et al.

Résumé :

« L'atelier international sur les alternatives au test murin de sensibilisation à l'histamine pour les vaccins pertussis cellulaire : progrès et défis dans le remplacement du test IST » a eu lieu le 24 Août 2014, à Prague, République Tchèque, lors d'une réunion en marge du 9^{ème} Congrès Mondial sur les Alternatives et Utilisation des Animaux dans les Sciences de la Vie. Les participants ont discuté des progrès et des défis associés au développement, à la validation et à la mise en place des tests *in vitro* pour remplacer le test de sensibilisation à l'histamine (HIST) pour les vaccins pertussis acellulaire. Les discussions ont porté sur l'approche de la régularité de production, le cadre nécessaire à l'acceptation réglementaire d'une méthode harmonisée et sur les efforts internationaux récents de développement de tests *in vitro* pour remplacer le test HIST. Les participants ont convenu que les alternatives acceptables pour le test HIST doivent être basées sur l'effet toxique sur cellules lié à l'ADP ribosylation et que, par conséquent, l'essai de cluster des cellules CHO, qui mesure cet effet toxique, doit être poursuivi et développé en tant que remplacement possible du test HIST. Les participants ont également convenu de poursuivre les discussions multinationales en incluant les autorités nationales et internationales de normalisation afin de parvenir à un consensus et, dans ce contexte, d'organiser des études collaboratives pour un essai de caractérisation et de calibration des matériaux de référence.

Cet article est publié dans PharmeuropaBio & Scientific Notes de la Direction Européenne de la Qualité du médicament & des Soins de Santé (EDQM), 7 allée Kastner, CS 30026, FR-67081 Strasbourg Cedex
Internet : <http://www.edqm.eu>

La distribution de l'article ci-dessus par l'intermédiaire de Francopa est autorisée officiellement par l'EDQM. Seul l'article publié dans PharmeuropaBio & Scientific Notes fait autorité : toute révision pourra être effectuée sans préavis et sera exclusivement accessible sur le site de l'EDQM. Nous encourageons les lecteurs à consulter régulièrement le site de l'EDQM pour s'assurer qu'ils possèdent la dernière version en date.

Cet article est disponible gratuitement en ligne (<http://pharmeuropa.edqm.eu/PharmeuropaBioSN/>) en sélectionnant « 2016 » sur le côté gauche ou en utilisant l'outil de recherche. Un identifiant et un mot de passe sont requis pour avoir accès à l'article. Si vous n'avez jamais été enregistré pour une consultation en ligne de Pharmeuropa, vous pouvez créer votre compte gratuitement sur <http://pharmeuropa.edqm.eu/home/> en sélectionnant « Login » dans le coin supérieur droit de la page puis « Register ».

LES MODÈLES ANIMAUX D'ÉTATS PATHOLOGIQUES POUR LE CRIBLAGE DES MÉDICAMENTS : UN SUJET TABOU ?

L'éditorial du numéro d'avril de la revue « Drug Discovery Today » est titré « les modèles animaux d'états pathologiques pour le criblage des médicaments : un sujet tabou ? ». Dans cet éditorial le Pr Takashi Tsukamoto pose aux lecteurs la question suivante : « pourquoi continue-t-on à utiliser les modèles animaux pour évaluer les nouveaux médicaments même si nous soupçonnons que ces modèles pourraient ne pas donner beaucoup d'informations sur l'efficacité chez l'homme ? ».

Sans proposer une interdiction définitive de l'expérimentation animale, le Pr Tsukamoto propose de concentrer les efforts de recherche sur les « trois piliers de la survie » qui améliorent les chances de réussite lors des essais de phase II : 1) évaluation de l'exposition de l'organe ou tissu ciblé au médicament, 2) liaison à la cible pharmacologique, 3) évaluation de l'activité pharmacologique. A priori, le troisième pilier pourrait se baser sur l'identification des changements des biomarqueurs associés avec le mécanisme d'action du médicament étudié.

Après avoir satisfait les contraintes imposées par ces piliers et surtout la caractérisation de biomarqueurs cliniques, les essais chez les patients seraient la première et seule validation pour l'évaluation de l'efficacité des nouveaux médicaments.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26921862>

MANIFESTATIONS

SÉMINAIRE SUR LES MÉTHODES QSAR : LE PROJET PROSIL

Le projet européen PROSIL (<http://www.life-prosil.eu/index.php>) organisera le 21 septembre 2016 à Milan (Italie) un séminaire sur l'application de méthodes QSAR/read-across dans un cadre réglementaire. Cet événement est organisé en partenariat avec des intervenants de l'ECHA, de l'EFSA, du CEFIC, de Nestlé, de l'ISS et d'UNITIS qui approfondiront les thématiques suivantes :

- Applications d'outils QSAR et read across aux substances chimiques d'intérêt industriel (produits agrochimiques, cosmétiques, additifs et adjuvants alimentaires).
- Outils prédictifs *in silico* pour la génotoxicité, cancérogénèse et toxicité organo-spécifique.
- Modélisation de la perturbation endocrinienne.
- Nouveau outil pour le read-across.
- Approche du « poids de la preuve » (weight of evidence).
- Stratégies pour la hiérarchisation des substances PBT.
- Démonstration d'application d'outils *in silico*.

<http://www.life-prosil.eu/pages/final-workshop.php>

EURL-ECVAM / OCDE

LE SITE ALTOX PROPOSE UN TABLEAU SUR LES MÉTHODES ALTERNATIVES VALIDÉES

Le site AltTox vient de mettre à jour son tableau sur les méthodes alternatives validées et acceptées. Ce tableau fournit une liste complète des méthodes alternatives approuvées par ICCVAM (États-Unis), EURL ECVAM (Union

européenne), et/ou JaCVAM (Japon). Les lignes directrices de l'OCDE sont également reportées dans le tableau. Cette ressource en ligne est la seule qui intègre toutes les méthodes dont l'approbation a été autorisée par les trois autorités internationales principales.

<http://alttox.org/mapp/>

[table-of-validated-and-accepted-alternative-methods/](http://alttox.org/mapp/table-of-validated-and-accepted-alternative-methods/)

L'UNION EUROPÉENNE ET LE BRÉSIL RENFORCENT LEUR COOPÉRATION SUR LES MÉTHODES ALTERNATIVES À L'EXPÉRIMENTATION ANIMALE

Entre le cinq et huit avril 2016, quatre représentants de l'EURL-ECVAM ont rendu visite à plusieurs institutions brésiliennes et, notamment, au Conseil Brésilien pour le contrôle de l'expérimentation animale (CONCEA). Les discussions ont porté sur les derniers développements en matière de méthodes alternatives, sur le financement et promotion de la recherche scientifique dans ce domaine et sur l'utilisation des approches intégrées en matière d'essais et d'évaluation (IATA). Les échanges ont également porté sur l'importance d'une harmonisation internationale et de la nécessité d'activités de formation dans le domaine des méthodes alternatives.

L'EURL-ECVAM continuera à travailler en étroite collaboration avec le Brésil à travers la coopération internationale sur les méthodes alternatives (ICATM).

Ce partenariat prévoit une intensification de la communication et de la collaboration lors de la planification et de l'exécution d'études de validation et lors de leur évaluation par un comité d'experts. Une attention particulière sera aussi prêtée à l'harmonisation réglementaire des tests.

<https://eurl-ecvam.jrc.ec.europa.eu/eu-delegation-to-brazil-strengthens-international-coordination-in-alternatives-to-animal-testing>

Directeur de la publication : Philippe HUBERT

Directeur de la rédaction : Enrico MOMBELLI

Maquette : Vanessa VEG

FRANCO^{PA} est constitué des représentants des structures suivantes :

ANSES	Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail
ANSM	Agence Nationale de Sécurité du Médicament et de la santé
CEA	Commissariat à l'Énergie Atomique et aux énergies alternatives
CNRS	Centre National de la Recherche Scientifique
FEBEA	Fédération des Entreprises de la Beauté
INERIS	Institut National de l'Environnement Industriel et des Risques
INRA	Institut National de la Recherche Agronomique
INSERM	Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale
LEEM	Les Entreprises du Médicament
LFDA	La Fondation Droit Animal, éthique et sciences
MENESR	Ministère de l'Éducation nationale, de l'Enseignement supérieur et de la Recherche
OPAL	Recherche Expérimentale et Protection de l'Animal de Laboratoire
SIMV	
SPTC	Syndicat de l'Industrie du Médicament Vétérinaire
UIC	Société de Pharmaco-Toxicologie Cellulaire Union des Industries Chimiques

- ISSN en cours -