



GUIDE DE L'ÉVALUATION ÉTHIQUE DES ÉTUDES SUR ANIMAUX

Mars 2008

Le Grice – Groupe de réflexion interprofessionnel sur les comités d'éthique

Le Grice est un groupe de travail du Gircor. Il est né en France au début des années 90 à l'initiative de Jacques Laurent, chercheur chez Roussel-Uclaf, dans le but de regrouper les comités d'éthique de la recherche privée. Le Grice se réunit plusieurs fois par an en séance plénière. Il a édité une charte en 1993 et publié des recommandations en 2000. Depuis quelques années, le réseau des comités d'éthique de la recherche publique s'est associé au Grice et participe à ses travaux. Le Grice informe les comités et rédige des recommandations pour les comités d'éthique français.

http://gircor.net/questions/grice_presentation.php

Le Gircor – Groupe interprofessionnel de réflexion et de communication sur la recherche

Le Gircor est une association loi de 1901 qui a été créée dans le but d'expliquer au public les raisons et les conditions du recours à l'expérimentation animale en recherche biomédicale. Le Gircor rassemble les établissements de recherche publics et privés. Il prône une recherche scientifiquement valable et éthiquement acceptable. Le Gircor soutient le Grice et les comités d'éthique permettant ainsi le développement de la protection animale dans les établissements de recherche.

<http://gircor.net/index.php>

GUIDE DE L'ÉVALUATION ÉTHIQUE DES ÉTUDES SUR ANIMAUX

RESUME

Les comités d'éthique pour la protection des animaux de laboratoire se sont développés dans le monde de la recherche depuis plusieurs décennies. La mission de ces comités est la protection des animaux. Leur principal moyen d'action est l'examen des projets de recherche préalablement à leur mise en œuvre. Cet examen est nommé évaluation éthique des études sur animaux.

Le monde scientifique et les autorités ont exprimé le besoin d'un guide de l'évaluation éthique. A la demande du Gircor, les représentants de l'ensemble des comités d'éthique français réunis au sein du Grice, l'ont rédigé.

L'évaluation éthique d'une étude par un comité comprend une évaluation:

- de l'intérêt du modèle animal dans le but poursuivi
- de la nécessité d'utiliser des animaux pour atteindre ce but
- de la possibilité d'atteindre ce but par les moyens envisagés
- des techniques et des méthodes mises en jeu
- des dommages et des contraintes subis par les animaux et des moyens mis en œuvre pour les diminuer.

L'évaluation se conclut par un avis du comité sur l'étude.

Ce guide décrit en détails ces différents éléments de l'évaluation. Il contient de nombreuses recommandations issues de l'expérience des comités français et des publications récentes. Il contient aussi les références réglementaires et scientifiques indispensables. Il apportera une aide appréciable aux comités et aux chercheurs.

Parti d'un besoin exprimé par l'ensemble des intervenants et par les autorités de tutelle, ce guide marque une avancée dans la qualité de l'évaluation éthique des projets de recherche. L'harmonisation des méthodes apporte une assurance de mise en œuvre de principes et de bonnes pratiques partagés par tous. La protection des animaux en recherche va en bénéficier, de même que la qualité des travaux de recherche.

PLAN

1 – Généralités

- 1.1 – Présentation du guide
- 1.2 – Les comités d'éthique
- 1.3 – Définitions
- 1.4 – Principes généraux de l'évaluation éthique

2 – L'évaluation éthique

- 2.1 – Le formulaire de saisine
- 2.2 – La conformité légale
- 2.3 – L'intérêt et la qualité scientifique
 - 2.3.1 – Présentation du bien-fondé de l'étude
 - 2.3.2 – Nécessité du recours à l'animal
 - 2.3.3 – Possibilité d'atteindre les objectifs
 - 2.3.4 – Exploitation des résultats
- 2.4 – Les techniques et les méthodes
 - 2.4.1 – Principes généraux
 - 2.4.2 – Hébergement
 - 2.4.3 – Administration de substances et prélèvements
 - 2.4.4 – Analgésie et anesthésie
 - 2.4.5 – Chirurgie
 - 2.4.6 – Euthanasie
- 2.5 – Les contraintes
 - 2.5.1 – Evaluation de l'inconfort, du stress et de la douleur
 - 2.5.2 – Recherche d'un point d'arrêt anticipé
 - 2.5.3 – Procédure d'urgence
- 2.6 – Le devenir des animaux

3 – Avis du comité

- 3.1 – Préparation de l'avis
- 3.2 – Constitution de l'avis

4 – Cas particuliers

- 4.1 – Programme
- 4.2 - Etude préliminaire
- 4.3 - Etude répétitive
- 4.4 – Service central - Sous traitance externe – Etude multi-sites

5 – Travail du comité

6 – Conclusion

Annexes

AUTEURS

Jean-Christophe Audonnet, *Merial*

Hugues Contamin, *MDS Pharma Services*

Emmanuelle Coppens, *sanofi pasteur*

Thierry Decelle, *sanofi pasteur*

Anne-Dominique Degryse, *Centre de Recherche Pierre Fabre, Institut de Recherche Pierre Fabre*

Delphine Denais, *Centre de Recherche Pierre Fabre, Institut de Recherche Pierre Fabre*

Nicolas Dudoignon, *sanofi-aventis*

Jean-Pierre Gillet, *Laboratoires MSD-Chibret*

Jean-Marc Idée, *Guerbet*

Christophe Joubert, *CEA*

Pierre Lainée, *CIT*

Catherine Maisonneuve, *Servier*

Sofiène Mhedhbi

Jean-François Oudet, *sanofi pasteur*

Virginie Vallet-Erdtmann, *Université de Rennes 1*

Bruno Verschuere, *Gircor*

Samuel Vidal, *Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon*

1 – Généralités

Les études sur les animaux sont actuellement indispensables en recherche biologique et médicale pour des raisons scientifiques, légales et éthiques. Mais, cette nécessité doit prendre en compte que les animaux sont des êtres vivants et sensibles et, qu'à ces titres, une considération particulière leur est due.

Dans ce but, Russel et Burch ont rédigé en 1959 le principe des 3R : « Replace, reduce and refine » qui dit qu'avant toute expérimentation animale, une réflexion doit permettre de vérifier la possibilité de remplacement ou de réduction de l'étude, ainsi que les moyens d'en améliorer la réalisation pour les animaux.

En 1979, au centre européen de la Tufts University à Talloires, la première charte française de l'éthique de l'expérimentation animale est rédigée sous les auspices de la fondation Marcel Mérieux, à l'occasion du centenaire de la mort de Claude Bernard :

« Art 1 : Les progrès de la connaissance humaine, et notamment ceux de la biologie, de la médecine de l'homme et des animaux, sont nécessaires. »

« Art 2: L'homme a besoin d'utiliser l'animal dans sa quête de la connaissance commune, pour se nourrir, se vêtir et travailler. Il a ainsi le devoir de respecter l'animal, cet auxiliaire, être vivant comme lui. »

« Art 3: Toute personne pratiquant l'expérimentation biologique doit prendre conscience que l'animal est doué de sensibilité, de mémoire et qu'il est capable de souffrir sans pouvoir échapper à la douleur. »

L'évaluation éthique doit avoir pour but d'assurer qu'à chaque étape de la réalisation d'une étude ou d'un projet, l'animal est pris en compte en tant qu'être vivant sensible.

1.1 – Présentation du guide

Les comités d'éthique pour la protection des animaux de laboratoire se sont développés dans le monde de la recherche depuis plusieurs décennies. En France, des initiatives des établissements de recherche publics et privés sont à l'origine de leur mise en place et de leur développement.

La mission de ces comités est la protection des animaux de laboratoire. Leur principal moyen d'action est l'examen des projets de recherche préalablement à leur mise en œuvre. Cet examen nommé évaluation éthique est réalisé selon des principes spécifiques bien définis. Il consiste à examiner l'intérêt et la qualité scientifique des études, ainsi que les contraintes appliquées aux animaux et les moyens mis en œuvre, si nécessaire, pour les réduire. Suite à cet examen, un avis sur le projet de recherche est émis.

Etant donné la complexité et la densité de cette tâche, le besoin d'un guide de l'évaluation éthique des études a été exprimé par les représentants du monde scientifique et des ministères à l'occasion du colloque organisé le 27 octobre 2005 à Paris par le Groupe interprofessionnel de réflexion et de communication sur la recherche (Gircor) et intitulé «Les comités d'éthique en expérimentation animale – Situation en France en 2005».

En réponse et à la demande du Gircor, les représentants de l'ensemble des comités d'éthique français réunis au sein du Groupe de réflexion interprofessionnel sur les comités d'éthique (Grice) ont rédigé ce guide qui a été approuvé par le Gircor.

Ce guide décrit dans le détail les principes et les méthodes de l'évaluation éthique des études sur animaux à des fins de recherche.

Les missions, la composition et le mode de fonctionnement des comités sont décrits dans d'autres documents et ne sont pas traités dans ce guide.

1.2 – Les comités d'éthique

Des comités, généralement qualifiés « d'éthique » mais, pas exclusivement, dont le rôle est d'assurer la protection des animaux de laboratoire, se sont développés depuis des décennies dans le monde. Dans certains cas, ils font partie intégrante de la réglementation, parfois ils la complètent.

Ainsi, le Conseil canadien de protection des animaux (Ccpa) a été créé en 1968 pour établir la réglementation canadienne sur l'utilisation des animaux de laboratoire. Ce conseil a rédigé un programme constitué d'un ensemble de recommandations. Ce programme demande la création de Comités de protection des

animaux pour chaque établissement où sont utilisés des animaux aux fins de recherche, d'enseignement ou de tests. Le Ccpa publie des documents techniques en français accessibles sur son site internet.

En parallèle, les Institutional animal care and use committees (Iacuc) ont été créés aux USA en 1971 par le National Institute of Health, institut public. Depuis 1985, ils sont obligatoires aux USA dans tous les centres où l'expérimentation animale est pratiquée. Ces comités assurent plusieurs fonctions : examen des protocoles, visite des locaux, vérification des formations des personnes. Ces comités sont les interlocuteurs officiels des autorités de contrôle. Il faut noter que les Iacuc complètent une législation fédérale qui ne prend pas en charge les rongeurs de laboratoire.

L'Europe, que ce soit au niveau du Conseil de l'Europe (Convention STE123) ou de l'Union européenne (directive 86/609), ne s'est jusqu'à présent pas préoccupée d'établir formellement des comités d'éthique ou de protection animale pour les animaux de laboratoire. La réglementation en matière d'expérimentation animale se base sur des systèmes d'autorisations administratives (établissement, protocoles, chercheurs) et de recommandations (formation, hébergement, soins). La Fédération européenne des associations des sciences de l'animal de laboratoire (Felasa) a mis en place un groupe de travail sur l'évaluation éthique des expérimentations animales. Ce groupe a réalisé une enquête qui montre, dans un rapport de 2005, que 20 pays européens membres ont créé des comités d'éthique. Il est à noter que pour 16 d'entre eux, il s'agit d'une obligation légale. Une harmonisation des méthodes apparaît nécessaire. La révision en cours de la directive 86/609 envisage d'ajouter à la réglementation existante, la nécessité de recourir à des comités d'évaluation éthique pour toute expérimentation ou programme d'expérimentation sur animaux.

En France, les premiers comités d'éthique ont été établis dans les années 1980. Puis, ils se sont généralisés dans les établissements de recherche de l'armée et de l'industrie pharmaceutique. Cette dernière s'est notamment appuyée sur le travail du Grice (publication de 2000 relative au fonctionnement des comités d'éthique dans la recherche privée, accessible sur le site Internet du Gircor). Les établissements de la recherche publique ont quant

à eux mis en place le réseau des Comités régionaux d'éthique de l'expérimentation animale (Creea) à partir de l'année 2001.

Tous ces comités ont été créés en complément à la réglementation française qui avait institué dès 1987 l'autorisation des chercheurs, l'agrément des locaux et la formation des personnes. L'objectif de la création des comités était d'ajouter à cette réglementation, pour le bénéfice des animaux et de la recherche, le regard de pairs sur les projets et la mise en commun des meilleures expertises. Dans le contexte d'une législation nationale qui donne la pleine responsabilité aux chercheurs, il est important de noter que la démarche des expérimentateurs a été spontanée et volontaire, aucun texte n'évoquant alors la nécessité de la création de tels comités.

Dans le but d'harmoniser les principes et les fonctionnements des comités d'éthique, le Comité national de réflexion éthique sur l'expérimentation animale a été créé en 2005. Il est placé auprès de la Cnea (Commission nationale de l'expérimentation animale) et a pour mission d'émettre des avis sur les questions éthiques soulevées par l'expérimentation animale. Il est notamment chargé de définir le champ d'action des comités établis auprès des laboratoires, sur la base d'une charte nationale portant sur la déontologie et l'éthique de l'expérimentation animale.

1.3 – Définitions

Pour la bonne compréhension de ce guide, il est nécessaire de définir certains mots. Les synonymes les plus fréquents sont indiqués.

Animaux de laboratoire :

L'expression « animaux de laboratoire » est utilisée dans ce guide au sens de l'article R214-88 du code rural. Il s'agit d'animaux vertébrés utilisés à des fins expérimentales ou à d'autres fins scientifiques.

Bien-être :

Ensemble des soins donnés aux animaux qui visent à satisfaire le mieux possible leurs besoins physiologiques et comportementaux.

En anglais : welfare (selon le contexte)

Document de saisine :

Un document de saisine décrit et explique une étude ou un programme d'études. Il est rédigé par l'expérimentateur à destination du comité d'éthique. Il est constitué du formulaire de saisine renseigné et éventuellement de documents annexes. C'est sur la base du document de saisine que le comité appuie son évaluation.

En anglais : application form

Etude :

Une étude, au sens de l'expérimentation animale, est un ensemble de procédures réalisées sur des animaux dans un but précis : l'objectif de l'étude. Ces travaux peuvent comprendre l'administration de substances à des animaux, la réalisation d'examens, d'enregistrements et de prélèvements sur les animaux, l'étude de ces prélèvements par des méthodes d'analyses de laboratoire, l'examen des données par des méthodes statistiques.

Egalement appelé : expérience, expérimentation, test

En anglais : experiment, study, procedure

Etude préliminaire :

Etude entreprise pour permettre la réalisation d'autres études. Une étude préliminaire peut s'avérer nécessaire pour l'évaluation, la validation, la mise au point, l'adaptation ou l'amélioration d'une technique ou pour l'affinement d'un protocole.

Egalement appelée : pré-étude, protocole essai, étude de mise au point, étude pilote

En anglais: preliminary study, pilot study

Expérimentateur :

Personne responsable d'une étude et interlocuteur du comité pour cette étude.

Egalement appelé : chercheur, directeur d'étude

En anglais : researcher, applicant, study director, principal investigator

Formulaire de saisine :

Le formulaire de saisine est un document propre à chaque comité. C'est un formulaire qui vise à rassembler les informations nécessaires au comité pour l'évaluation d'une étude. Il est renseigné par l'expérimentateur et constitue, avec ses éventuelles annexes, le document de saisine.

Egalement appelé : masque, grille

En anglais : protocol form, blank application form

Hébergement :

L'hébergement recouvre les domaines suivants : le système d'hébergement (confinement primaire), l'environnement (paramètres d'ambiance), les soins (alimentation, abreuvement, litière, nettoyage, désinfection), l'enrichissement du milieu.

En anglais: housing, husbandry

Hébergement standard :

L'hébergement standard est l'hébergement habituel des animaux tel que présenté dans le dossier d'agrément de l'établissement.

Point d'arrêt anticipé:

Critère d'interruption de tout ou partie de l'étude visant à limiter la pénibilité pour les animaux concernés.

Egalement appelé : critère d'interruption, point limite, point d'arrêt précoce

En anglais: humane end point

Procédure:

Une procédure est un geste ou un ensemble de gestes destinés à réaliser une action précise dans le cadre d'une étude. Une procédure porte souvent le nom de son objectif (administration par voie orale, prélèvement urinaire). Dans un but de standardisation, une procédure peut être décrite dans un document interne (recommandation, mode opératoire). Ce document est parfois nommé "procédure".

Egalement appelé: technique, mode opératoire

En anglais : procedure

Programme :

Ensemble d'études visant un même objectif scientifique.

Egalement appelé : projet, thème ou thématique de recherche

En anglais : programme, project

Protocole :

Un protocole décrit une étude. Il est rédigé par l'expérimentateur à destination des personnes qui assurent la réalisation de l'étude.

Egalement appelé : plan d'étude

En anglais: programme of work, study plan, protocol

1.4 – Principes généraux de l'évaluation éthique

L'évaluation éthique doit permettre de comprendre la nécessité scientifique du recours aux animaux vivants, ainsi que la raison du choix de l'espèce. Grâce à elle, le comité doit pouvoir constater que les principes de la bienveillance sont respectés et que les conditions d'utilisation des animaux sont optimisées (principe des 3R) compte tenu des nécessités expérimentales.

Par conséquent, l'évaluation éthique comprend une évaluation :

- de l'intérêt du modèle animal dans le but poursuivi (avantage attendu) ;
- de la nécessité d'utiliser des animaux pour atteindre ce but (possibilité de remplacement) ;
- de la possibilité d'atteindre ce but par les moyens envisagés ;
- des techniques et des méthodes mises en jeu ;
- des dommages et des contraintes subis par les animaux et des moyens mis en œuvre pour les diminuer.

S'appuyant sur ces éléments, le comité pourra émettre un avis sur le projet d'étude qui lui a été présenté.

L'avis du comité doit être donné avant que ne débute l'étude.

Selon les cas, l'évaluation peut se faire au niveau d'une seule étude ou bien d'un ensemble d'études, c'est-à-dire d'un programme. Dans certains cas, il peut être fait l'évaluation d'une procédure, par exemple quand les contraintes appliquées aux animaux y sont importantes ou quand elle est utilisée en routine dans différentes études.

En complément à l'évaluation préalable d'une étude, le comité peut aussi réaliser une évaluation rétrospective. Cela consiste à examiner le déroulement et les résultats de l'étude. L'évaluation rétrospective est particulièrement recommandée pour les études nouvelles pour le comité, pour les programmes très longs ou pour des études potentiellement stressantes ou douloureuses. L'évaluation rétrospective ne sera pas traitée dans ce guide.

2 – L'évaluation éthique

Ce chapitre décrit en détail le cas général de l'évaluation éthique.

Les particularités liées à l'évaluation d'un programme, d'une étude préliminaire, d'une étude répétitive, d'une étude déléguée ou sous-traitée, ou d'une étude multi-sites sont décrites dans le chapitre 4.

Les éléments de l'évaluation éthique sont présentés dans un ordre qui correspond à la logique la plus fréquemment retenue par les comités pour accomplir cette mission : conformité légale, intérêt et qualité scientifique, techniques et méthodes, dommages et contraintes, devenir des animaux.

2.1 – Le formulaire de saisine

Les informations nécessaires à l'évaluation d'une étude sont fournies au comité par l'expérimentateur dans le document de saisine qui est composé du formulaire de saisine correctement renseigné et des annexes utiles.

Le formulaire de saisine doit être conçu par le comité et être à la fois complet, précis et concis. Sa forme doit être adaptée aux travaux de recherche menés par les expérimentateurs et au mode de fonctionnement du comité. L'expérience montre que ce document doit être consensuel, c'est-à-dire créé en collaboration avec les expérimentateurs. Une notice d'utilisation du formulaire est parfois utile pour aider les expérimentateurs dans leur rédaction.

2.2 – La conformité légale

Le contrôle de la conformité légale ne relève pas de l'évaluation éthique.

Cependant, l'expérimentateur doit s'assurer que son projet et les conditions de sa mise en œuvre répondent aux exigences réglementaires avant de le soumettre au comité d'éthique, notamment celles relatives à l'expérimentation animale décrites dans les articles R214-87 à R215-10 du code rural.

Pour pouvoir constater cette conformité, le document de saisine demande à l'expérimentateur de préciser que les travaux

envisagés répondent aux différentes exigences réglementaires rappelées ci-dessous.

Licéité : l'étude envisagée doit avoir un caractère de nécessité et ne doit pas pouvoir être remplacée par une autre méthode expérimentale qui éviterait le recours à des animaux vivants. Elle doit être réalisée aux fins :

- de diagnostic, prévention ou traitement des maladies et d'autres anomalies de l'homme, des animaux ou des plantes ;
- d'essai d'activité, d'efficacité et de toxicité des médicaments et des autres substances biologiques et chimiques et de leurs compositions, y compris les radioéléments et les matériels à usage thérapeutique pour l'homme et les animaux ;
- de contrôle et d'évaluation des paramètres physiologiques chez l'homme et les animaux ;
- de contrôle de qualité des denrées alimentaires ;
- de recherche fondamentale ou appliquée ;
- d'enseignement supérieur ;
- d'enseignement technique et de formation professionnelle conduisant à des métiers qui comportent la réalisation d'expériences sur des animaux ou le traitement et l'entretien des animaux ;
- de protection de l'environnement.

Les personnes : L'étude doit être sous le contrôle direct du titulaire d'une autorisation nominative d'expérimenter sur animaux vivants valide et répondant aux exigences de l'étude. Le nom du titulaire doit être précisé dans le document de saisine. Dans le cas où le titulaire de l'autorisation n'est pas l'expérimentateur qui soumet l'étude au comité, il doit être associé à la rédaction du document de saisine. L'autorisation de recourir à la chirurgie doit être précisée dans l'autorisation individuelle d'expérimenter de la personne qui la pratique.

D'autres autorisations sont nécessaires dans le cas d'utilisation d'organismes génétiquement modifiés ou d'espèces non domestiques (certificat de capacité).

Tous les techniciens qui assurent la réalisation du protocole sur les animaux vivants doivent avoir suivi une formation reconnue de niveau II au moins.

Tous les zootechniciens qui assurent l'hébergement des animaux doivent avoir suivi une formation reconnue de niveau III.

Les locaux : Les locaux doivent être agréés par la préfecture (agrément d'un établissement d'expérimentation animale délivré par la Direction départementale des services vétérinaires) pour la réalisation de l'étude envisagée. Ils doivent aussi être agréés, le cas échéant, pour la détention d'animaux transgéniques par la commission de génie génétique et pour la détention d'espèces non domestiques par la préfecture.

L'expérimentateur doit s'assurer que les limites de validité des différentes autorisations couvrent la durée des études. Les agréments des locaux d'expérimentation, ainsi que les autorisations nominatives d'expérimenter et les agréments pour l'utilisation d'organismes génétiquement modifiés sont valables cinq ans, sauf mention contraire. Si la durée de l'étude dépasse la limite de validité des autorisations, l'expérimentateur doit s'assurer que les demandes de renouvellement seront effectuées en temps utile.

Les animaux : L'étude envisagée doit être conforme à l'agrément préfectoral de l'établissement pour ce qui concerne les espèces animales utilisées et l'origine des animaux.

2.3 – L'intérêt et la qualité scientifique

L'évaluation éthique d'une étude comprend l'évaluation de l'intérêt et de la nécessité d'utiliser des animaux dans le but décrit. Elle comprend aussi l'évaluation de la possibilité d'atteindre ce but par les travaux envisagés et par les moyens mis en œuvre. Cette évaluation des aspects scientifiques sera d'autant plus exigeante que les contraintes imposées aux animaux seront importantes.

Ceci dit, il faut rappeler que le comité d'éthique n'est en aucun cas un comité scientifique.

Les chapitres qui suivent expliquent comment ces deux aspects peuvent être conciliés.

2.3.1 – Présentation du bien-fondé de l'étude

Le comité doit comprendre le bien-fondé de l'étude pour pouvoir émettre un avis. C'est pourquoi l'expérimentateur doit clairement expliquer, dans le document de saisine, le but de l'étude et les résultats qu'il en attend, même si l'intérêt de celle-ci a déjà été évalué par l'autorité scientifique de l'institution.

Pour cela, l'expérimentateur doit expliquer le contexte dans lequel l'étude se situe, c'est-à-dire le programme, ainsi que la place et l'apport de l'étude dans ce programme.

Il faut aussi présenter l'intérêt du programme et de l'étude en faisant référence par exemple à des documents internes (rapport d'un comité scientifique) ou externes (documents réglementaires, publications scientifiques, rapport d'évaluation scientifique externe).

Les travaux de recherche sont le plus souvent originaux et innovants. Mais, il arrive parfois, par exemple par nécessité de validation, qu'il faille répéter une étude déjà réalisée. Dans le cas, il faut en expliquer la raison.

L'expérimentateur doit s'astreindre à une rédaction qui soit claire. Celle-ci doit être comprise par les membres du comité. Les explications trop techniques ou trop longues doivent être évitées. Cet effort de communication est indispensable. Il est à l'image de ce que l'opinion publique demande à la recherche aujourd'hui afin de lui accorder son approbation et son soutien : une compréhension claire des bénéfices attendus.

2.3.2 – Nécessité du recours à l'animal

Evaluer la nécessité du recours à l'animal signifie examiner la possibilité d'y substituer utilement une ou plusieurs autres méthodes expérimentales pour atteindre le but fixé et conclure qu'aucune ne peut apporter les résultats escomptés.

C'est sur la base des informations produites dans le document de saisine que le comité examine cet aspect.

Il revient donc à l'expérimentateur de démontrer sur des bases biologiques simples ou par des références réglementaires, qu'aucune méthode autre que l'expérimentation animale ne permet d'atteindre le but fixé.

Il peut être utile de produire en annexe au document de saisine une publication scientifique ou les résultats d'une recherche documentaire qui soutiennent la démonstration.

2.3.3 – Possibilité d'atteindre les objectifs

L'évaluation de la possibilité d'atteindre les objectifs de l'étude peut paraître la partie la plus délicate de l'évaluation éthique. Cette évaluation peut en effet nécessiter une expertise scientifique dont un comité ne dispose pas toujours.

Plusieurs éléments d'information peuvent être documentés dans le formulaire de saisine pour fonder le succès de l'étude :

- synopsis ou chronogramme de l'étude et plan expérimental;
- choix de l'espèce animale;
- choix du nombre d'animaux et analyses statistiques.

Synopsis ou chronogramme de l'étude et plan expérimental :

Le synopsis ou chronogramme de l'étude décrit de manière schématique la chronologie des différentes interventions et procédures réalisées sur les animaux. Il donne une idée précise du déroulement et de la durée de l'étude.

Il permet aussi de mettre en évidence les étapes les plus contraignantes pour les animaux. C'est un élément déterminant pour la suite de l'évaluation, en particulier dans l'examen de l'efficacité des moyens mis en œuvre pour diminuer l'impact des contraintes sur les animaux.

Le plan expérimental décrit la logique scientifique de l'étude. Une étude repose souvent sur une comparaison entre différentes conditions expérimentales (composés, doses, temps d'analyse). Il convient de s'assurer que le plan expérimental permettra effectivement cette comparaison, en mettant notamment en avant les différents groupes expérimentaux prévus.

Choix de l'espèce animale :

Le choix de l'espèce animale pour l'étude est justifié par l'expérimentateur dans le document de saisine sur la base des données scientifiques et réglementaires disponibles. Le plus souvent le choix s'impose de lui-même à partir de ces informations.

Dans le cas où, sur ces bases, plusieurs espèces peuvent être choisies, l'expérimentateur retiendra en priorité celle pour laquelle les contraintes imposées par le protocole et par les conditions d'hébergement seront les moins importantes.

L'expérimentateur s'assure que les conditions d'hébergement autorisées et accessibles sur le site de l'expérimentation sont compatibles avec la bonne réalisation de l'étude (disponibilité des locaux, hébergement particulier).

Nombre d'animaux et analyses statistiques :

Une étude doit inclure le nombre d'animaux nécessaire et suffisant pour atteindre son objectif scientifique.

Le nombre d'animaux de l'étude est justifié par l'expérimentateur dans le document de saisine. Chaque fois que c'est possible, il est fourni à la fois pour l'étude entière et pour chaque groupe d'animaux dans l'étude.

Un des grands principes inclus dans le principe des 3R, et dont tout comité surveille le respect, est de limiter le nombre d'animaux utilisés dans une étude au minimum nécessaire et suffisant pour la validité scientifique de l'étude. Il faut garder à l'esprit qu'une étude réalisée avec un trop petit nombre d'animaux pour permettre de conclure est une étude inutile.

Il est donc important que le comité d'éthique puisse s'assurer que le nombre d'animaux est suffisamment justifié par l'expérimentateur et qu'il ne découle pas de la simple réplication d'habitudes ou d'études antérieures, ou d'une précaution méthodologique excessive.

Les différentes références dont l'expérimentateur dispose pour justifier le nombre d'animaux sont :

- les biostatistiques ;

- la réglementation et les lignes directrices ;
 - la documentation scientifique ;
 - une étude préliminaire.
- Ces différentes références peuvent être combinées.

2.3.4 – Exploitation des résultats

L'expérimentateur décrit les méthodes qui seront utilisées pour analyser les paramètres biologiques des animaux au cours et à la fin de l'étude. Ces méthodes doivent permettre d'exploiter au mieux la situation expérimentale proposée et de recueillir le maximum d'informations dans la perspective de réduire le nombre d'animaux utilisés et de corrélérer les différents résultats.

L'accès aux moyens technologiques nécessaires à l'exploitation des prélèvements et des informations obtenues en cours d'étude doit être assuré. Ce peut être le cas, par exemple, pour un microscope électronique ou pour des systèmes d'analyse informatisés.

2.4 – Les techniques et les méthodes

2.4.1 – Principes généraux

L'évaluation des techniques et des méthodes se fait par rapport aux référentiels et aux connaissances actualisés ou par rapport à des exigences normatives imposées par la réglementation (pharmacopées). Dans tous les cas, tout aménagement susceptible d'améliorer le bien-être des animaux doit être retenu.

Un établissement de recherche ou une institution peuvent souhaiter établir des référentiels qui leurs sont propres. Ils sont évalués par le comité.

Toute déviation aux référentiels, envisagée dans le cadre d'une étude, doit être expressément signalée par l'expérimentateur dans le document de saisine et justifiée afin que le comité puisse émettre un avis.

2.4.2 - Hébergement

L'hébergement standard est défini à partir des recommandations qui complètent la réglementation. Chaque responsable d'établissement garantit le respect de ces dispositions. Le contrôle est assuré par la Direction départementale des services vétérinaires.

Toute modification des conditions de l'hébergement standard dans une étude doit être précisée et justifiée dans le document de saisine. Les modifications les plus fréquemment appliquées sont l'isolement, la diète et la réduction de mobilité.

Le comité peut recommander des compensations (enrichissement de l'environnement) ou définir une durée limitée pour ces conditions particulières.

Le comité peut demander des améliorations des conditions d'hébergement des animaux même en l'absence d'altération de l'hébergement standard. Par exemple, il peut demander un environnement plus silencieux pour des animaux sensibles ou plus chaud pour des animaux fragilisés.

Le comité doit connaître l'hébergement standard des animaux (cages, volières, enclos, groupes, alimentation, environnement) afin de pouvoir apprécier les conditions de réalisation des études et de pouvoir envisager des aménagements particuliers.

2.4.3 - Administration de substances et prélèvements

La plupart des études consistent en l'exposition des animaux à des substances ou des environnements particuliers dans des conditions qualitatives et quantitatives précises relatives à l'intensité (doses), au lieu d'administration et au temps (fréquence, durée). De même, le prélèvement de sang fait partie de très nombreux protocoles d'études.

Le document de saisine doit préciser les modalités (voie, volume, fréquence) d'administrations et de prélèvements pour l'étude présentée.

Que ce soit pour l'administration de substances ou pour les prélèvements, il faut appliquer avec professionnalisme une

technique adaptée qui permette d'obtenir le résultat escompté en perturbant les animaux le moins possible.

La réglementation ne donne pas de référence en matière d'administration de substances et de prélèvements. Les conditions qu'il convient d'appliquer sont détaillées dans différents référentiels.

La procédure de prélèvement sanguin au sinus rétro-orbitaire chez les rongeurs est très fréquemment utilisée car elle permet le prélèvement rapide d'une quantité de sang suffisante pour la plupart des examens. Cette technique étant appliquée à un grand nombre d'animaux, le Grice souhaite insister sur le fait que cette procédure peut entraîner des lésions et de la douleur. C'est pourquoi elle devrait être réalisée sous anesthésie générale, qui rend le prélèvement plus aisé, et en limitant le nombre de prélèvements.

Les propriétés physico-chimiques des substances administrées et de leur véhicule doivent répondre à des critères de biocompatibilité variables selon la voie d'administration : tolérance locale, température, stérilité, tonicité, pH, afin de garantir l'absence d'effets secondaires tels qu'irritation ou hémolyse.

Le Grice recommande *A good practice guide to the Administration of Substances and Removal of Blood, Including Routes and Volumes* (Technical group of EFPIA/ECVAM, Journal of Applied Toxicology 21, 15-23, 2001) qui est une référence utilisée par de nombreux comités. Un résumé des tableaux que contient cette publication est donné en annexe.

2.4.4 - Analgésie et anesthésie

La réalisation d'une étude peut entraîner l'apparition de douleur ou de souffrance chez les animaux.

L'article R214-91 du code rural exige que les études qui peuvent entraîner des souffrances soient réalisées sous anesthésie locale ou générale ou sous analgésie, sauf si leur pratique est plus traumatisante que l'étude elle-même ou incompatible avec les buts de l'étude. Le non recours à des anesthésiques ou à des analgésiques doit être justifié explicitement et peut entraîner la

nécessité de faire une déclaration auprès du préfet au titre de l'article R214-91 du code rural.

L'expérimentateur doit donc donner dans le document de saisine toute l'information utile sur la possibilité d'apparition de douleur ou de souffrance dans l'étude (voir 2.5.1) et sur les mesures prises (analgésie ou anesthésie) pour les supprimer ou les diminuer. Il doit décrire les méthodes d'analgésie ou d'anesthésie retenues et les justifier.

Un référentiel des niveaux de douleur et des classes d'agents antalgiques utilisables a été développé par le comité régional d'éthique en expérimentation animale de Rhône-Alpes et édité par le CNRS (<http://ethique.ipbs.fr/sdv/doulanimexp.pdf>).

Les connaissances des personnes qui pratiquent doivent porter au minimum sur les effets des produits utilisés pour l'analgésie et l'anesthésie dans l'espèce animale considérée, sur les réactions des animaux (détection des stades de l'anesthésie, phases de réveil, signes de douleur) et sur la conduite à tenir en cas de réveil précoce ou de surdosage.

Ceci dit, l'efficacité d'une analgésie ou d'une anesthésie ne peut s'appuyer uniquement sur une prescription, elle demande à être vérifiée sur place. Une expérience pratique doit donc compléter la formation théorique.

Le document de saisine doit apporter des informations sur ces différents points.

2.4.5 - Chirurgie

La chirurgie est une pratique qui porte atteinte à l'intégrité physique par l'incision. Elle se déroule sous anesthésie locale, régionale ou générale. Elle requiert des compétences particulières qui s'acquièrent par des connaissances de base et un apprentissage des gestes auprès de spécialistes.

L'expérimentateur doit préciser dans le document de saisine les raisons du recours à la chirurgie, le détail des méthodes (préparation des animaux, anesthésie, analgésie, asepsie, intervention, réveil et soins post-opératoires), les personnes ou les

équipes impliquées (leurs formations et leurs autorisations) et les équipements ou locaux concernés.

Pour l'évaluation, le comité d'éthique se base sur les informations données par l'expérimentateur, y compris les références à des procédures ou à des publications, sur sa connaissance des intervenants et des équipements, sur sa connaissance de la chirurgie (anesthésie, analgésie, asepsie, technique chirurgicale, monitoring) et si nécessaire sur l'avis d'un expert.

Selon l'importance de l'intervention chirurgicale (mineure ou majeure), les conditions d'examen par le comité doivent être adaptées.

Les interventions chirurgicales mineures sont utilisées par exemple pour la pose de cathéters ou de capteurs dans des tissus sous-cutanés ou musculaires ou pour la réimplantation d'embryons dans des femelles pseudo-gestantes. Elles permettent la réalisation de l'étude sans en être l'objet le plus souvent.

Ces interventions simples quand elles sont réalisées de façon répétitive peuvent faire l'objet de procédures internes. Les procédures une fois approuvées par le comité peuvent être citées en référence dans les documents de saisine.

Les locaux et les intervenants doivent être précisés pour chaque étude, à moins qu'ils ne soient mentionnés dans les procédures. S'il s'avère impossible de définir précisément les personnes et les locaux a priori, le comité peut se satisfaire d'une référence à une équipe et à un groupe de locaux.

Les interventions chirurgicales majeures sont entreprises par exemple pour la pose d'appareillage intra-abdominal ou intra-thoracique ou pour la recherche dans le domaine chirurgical. Leur bonne réalisation exige des moyens importants et des compétences spécialisées. Leur caractère invasif peut entraîner des douleurs post-opératoires importantes si elles ne sont pas réduites par l'utilisation d'analgésiques. Si la douleur ne peut pas être supprimée, l'expérimentateur doit vérifier la nécessité de faire une déclaration auprès du préfet au titre de l'article R214-91 du code rural.

Compte tenu de ces particularités, les interventions chirurgicales majeures demandent une attention particulière du comité.

La compétence et l'expérience des intervenants et la qualité des équipements doivent être examinées en détail.

Le comité peut recommander une étude préliminaire (voir 4.2). Cette étude préliminaire réalisée sur un nombre limité d'animaux permet de vérifier la possibilité de réaliser dans de bonnes conditions scientifiques et éthiques le projet d'étude. En particulier, elle permet de vérifier que tous les éléments ont été pris en compte pour la bonne prise en charge de la douleur post-opératoire.

2.4.6 - Euthanasie

L'euthanasie est l'acte de mettre fin à la vie d'un animal par une méthode qui entraîne le minimum de stress et de douleur.

L'euthanasie est régulièrement utilisée à l'issue des études, soit parce qu'elle est nécessaire pour la réalisation d'examens ou de prélèvements (cas, de loin, le plus fréquent), soit parce qu'aucune autre issue n'est envisageable pour les animaux, notamment lorsque leur survie se ferait au prix de souffrances prolongées.

L'expérimentateur doit préciser dans le document de saisine le moment de l'euthanasie des animaux, la méthode d'euthanasie utilisée, les personnes chargées de la réalisation, le lieu de l'euthanasie et les prélèvements ou examens éventuellement réalisés avant la mort (par exemple pendant la phase d'anesthésie qui peut précéder l'euthanasie).

Le choix d'une méthode d'euthanasie dépend principalement de l'espèce animale, des prélèvements ou examens éventuellement prévus, des compétences des personnes qui la réalisent et des moyens disponibles, au regard en particulier des effectifs d'animaux concernés.

Des documents de référence décrivent les méthodes d'euthanasie utilisables et indiquent aussi pour quelles espèces et dans quelles conditions elles peuvent être utilisées.

Le Grice préconise *Recommendations for euthanasia of experimental animals: Part 1 and Part 2A* (Laboratory Animals 30, 293-316 et 31, 1-32, 1996) qui est une référence utilisée par de nombreux comités. Ces recommandations ont été préparées pour la Direction Générale Environnement de la Commission européenne pour l'application de la directive 86/609.

Ces documents sont accessibles en version électronique à l'adresse <http://www.lal.org.uk/workp.html>.

Dans certains cas et pour garantir la qualité des opérations, le comité peut approuver une liste restreinte de méthodes d'euthanasie utilisables qui tient compte des locaux et des équipements disponibles, des études couramment réalisées et de la formation des personnes.

Les personnes chargées de l'euthanasie doivent être formées à la méthode retenue. De même, en fonction de la méthode retenue, les locaux où l'euthanasie est réalisée doivent être aménagés pour offrir de bonnes conditions de travail. Les manipulations qui précèdent l'euthanasie sont réalisées de façon à entraîner le moins de stress possible chez les animaux.

2.5 – Les contraintes

2.5.1 - Evaluation de l'inconfort, du stress et de la douleur

Les études imposent souvent aux animaux des contraintes. Cela peut être de l'inconfort, lié par exemple à une restriction même momentanée de la liberté de mouvement, du stress lié à la manipulation ou de la douleur dans le cas de certains modèles pathologiques comme par exemple l'arthrite. Ces contraintes peuvent exister même lorsque les meilleures techniques et méthodes connues sont utilisées.

L'évaluation des contraintes, en durée et en intensité, permet d'engager une réflexion visant à les diminuer si elles apparaissent élevées. Cette diminution peut être apportée de différentes façons : nouvelle technique, anesthésie, analgésie, hébergement modifié. Le protocole de l'étude est modifié en fonction des améliorations retenues.

L'évaluation des contraintes permet aussi de répondre à l'obligation réglementaire de déclaration des protocoles douloureux conformément à l'article R214-91 du code rural.

L'évaluation des contraintes est faite par l'expérimentateur et présentée dans un paragraphe particulier du document de saisine. Elle est discutée par le comité.

Pour ne pas être subjective et discutable, cette évaluation doit être faite en référence à des documents publiés.

Les différents référentiels publiés ne sont pas harmonisés à l'heure actuelle et leur utilisation peut donc mener à des évaluations différentes. Aussi, dans cette situation, est-il souhaitable que le comité en choisisse un et qu'il demande aux expérimentateurs de n'utiliser que celui-là. Cette attitude se justifie aussi par le fait que l'utilisation d'un référentiel demande une certaine habitude.

Le Grice recommande la *Classification prospective des expériences sur animaux selon leur degré de gravité (catégories de contrainte)* publiée par l'Office vétérinaire fédéral suisse et mise à jour en 2004. Ce document complet et clair est le fruit d'un travail d'experts issus de la recherche, de la protection animale et de l'administration. Ce document a l'avantage d'être disponible en version française ce qui évite des interprétations variées liées à la traduction. Il est disponible en version électronique à l'adresse <http://www.bvet.admin.ch/themen/tierschutz/00777/00778/index.html?lang=fr>

2.5.2 – Recherche d'un point d'arrêt anticipé

Il existe des domaines de recherche où l'objectif scientifique n'est atteint que dans des circonstances pénibles pour les animaux. C'est le cas de certains modèles en infectiologie ou en cancérologie. C'est aussi le cas de certaines études réglementaires.

Des travaux d'ordre scientifique et réglementaire sont entrepris pour substituer au(x) stade(s) ultime(s) de telles études un stade plus précoce et moins pénible pour les animaux et qui ne remette pas en cause la validité scientifique de l'étude : c'est le point d'arrêt anticipé.

L'expérimentateur en charge d'une telle étude doit se poser la question de définir un point d'arrêt anticipé.

Le point d'arrêt anticipé peut être par exemple, un changement de poids ou de prise alimentaire, une modification précise du comportement ou de l'aspect, une modification des signes de l'activité cardiaque ou respiratoire. Parfois, ce sont des paramètres

sanguins qu'il faut surveiller. La définition d'un point d'arrêt anticipé fait souvent appel à plusieurs critères.

Des publications proposent des points d'arrêt anticipés pour certains types d'études et la littérature s'enrichit progressivement sur le sujet. Une veille scientifique et réglementaire conduite par l'expérimentateur permet de suivre les progrès en la matière.

Il est important que l'atteinte du point d'arrêt anticipé soit rapidement et facilement détectable pour éviter toute souffrance inutile. La solution est souvent l'euthanasie de l'animal. Parfois, l'interruption de l'expérience ou la dispense de soins permettent de soulager rapidement l'animal et peuvent donc être mis en œuvre.

Les évaluations rétrospectives des études concernées par la définition d'un point d'arrêt anticipé sont riches d'enseignements dans ce domaine, pour l'expérimentateur et le comité.

S'appuyant sur les éléments décrits ci-dessus, l'expérimentateur explique dans le document de saisine comment il a répondu à l'éventuelle nécessité de rechercher un point d'arrêt anticipé pour l'étude qu'il soumet et le comité évalue sa réponse.

2.5.3 – Procédure d'urgence

Il peut arriver que l'état général d'un animal se dégrade rapidement et de façon imprévisible en cours d'étude. Ce peut être le cas, par exemple, dans des études de toxicologie ou de pharmacologie sur de nouvelles substances.

Le caractère imprévisible d'une telle dégradation fait qu'elle ne peut pas être intégrée dans un document de saisine et examinée au cours de l'évaluation éthique. Le but de ce chapitre est de rappeler qu'une procédure d'urgence doit exister dans les établissements afin d'assurer la protection des animaux même dans des circonstances imprévisibles.

Une procédure doit donc définir la conduite à tenir pour détecter un état général très dégradé chez un animal et pour agir rapidement dans le but d'éviter des douleurs inutiles tout en préservant autant que possible l'objectif de l'étude.

Cette procédure d'urgence comprend une liste de critères qui permettent de reconnaître pour chaque espèce un état général très dégradé, ainsi que le circuit d'information imposé qui permet d'obtenir rapidement et quelles que soient les circonstances, une décision et une intervention efficaces. Les références données en annexe peuvent aider à la rédaction de cette procédure.

La procédure d'urgence est rédigée par l'établissement ou les expérimentateurs et présentée au comité qui émet un avis. Elle est ensuite mise à disposition et connue de toutes les personnes qui interviennent au contact des animaux. Elle s'applique à tous les animaux de l'établissement.

2.6 – Le devenir des animaux

L'expérimentateur indique dans le document de saisine le devenir des animaux à la fin de l'étude.

Pour différentes raisons (voir 2.4.6), l'euthanasie est souvent pratiquée. Outre le choix de la méthode d'euthanasie, le délai intervenant entre les derniers prélèvements ou examens et l'euthanasie elle-même doit être prévu à l'avance.

La réutilisation d'animaux est parfois possible. Elle permet l'économie de vies animales et l'utilisation d'animaux aux caractéristiques biologiques mieux connues. La réutilisation d'animaux est fréquente pour certains domaines comme la pharmacocinétique ou quand le recours à la télémétrie est pratiqué. Cependant, la réutilisation d'animaux doit respecter la réglementation, la santé des animaux et la nécessité de validité scientifique des études.

La réglementation concernant la réutilisation d'animaux est précisée dans les articles R214-91 et R214-92 du code rural. Ce dernier indique qu'il ne peut être procédé sans anesthésie ou analgésie à plus d'une intervention douloureuse sur un même animal.

Le cadre de la réutilisation doit aussi être précisé par l'expérimentateur pour éviter d'exposer les animaux à des répétitions trop fréquentes qui entraîneraient une détérioration de leur état général et une diminution ou une perte de la valeur

scientifique des études. Ainsi, le nombre de réutilisations, leur fréquence et une limite dans le temps doivent être précisés le cas échéant dans le document de saisine. Pour définir ces paramètres, l'expérimentateur tient compte dans le contexte de son projet de recherche des éléments suivants : contraintes imposées aux animaux par chaque étude, validité scientifique, qualité des conditions d'hébergement, suivi de l'état de santé des animaux.

Il n'existe pas de référentiel pour la réutilisation des animaux. Certains comités définissent un cumul de scores de gravité à ne pas dépasser, d'autres évaluent au cas par cas. Dans cette situation, le Grice recommande une évaluation au cas par cas qui tienne compte entre autres de l'avis de vétérinaires, ainsi que la rédaction de références internes.

La remise en liberté d'animaux est prévue par l'article R214-89 du code rural. Cette éventualité peut être envisagée pour des animaux sauvages ou domestiques. Dans ce dernier cas, il ne peut s'agir que d'adoptions. La remise en liberté doit se faire en garantissant la qualité des soins qui seront portés aux animaux ainsi que la protection de la santé publique et de l'environnement. Elle doit être autorisée par le préfet du lieu de la remise en liberté.

3 – Avis du comité

Après avoir examiné un document de saisine, le comité émet un avis qui clôt l'évaluation.

3.1 – Préparation de l'avis

Toutes les informations qui doivent permettre au comité de constituer un avis sur un projet d'étude sont incluses dans le document de saisine par l'expérimentateur. L'examen du document de saisine se fait en séance restreinte ou plénière, en conformité avec le mode de fonctionnement du comité.

Suite à une première lecture, il est possible que le comité demande des informations complémentaires. Elles ne sont pas constitutives de l'avis, mais du processus d'évaluation. De même, des demandes de modifications de protocole émises par le comité pendant cette phase de préparation ne constituent pas un avis. Le

comité peut rencontrer l'expérimentateur pour discuter de certains points.

Ces échanges visent à éviter tout malentendu, à améliorer si nécessaire le document remis par l'expérimentateur et à donner au projet le maximum de chances d'être accepté s'il est acceptable. Le comité en conserve la trace.

C'est seulement au terme de la phase de préparation que le comité constitue son avis.

3.2 – Constitution de l'avis

L'avis du comité sur le projet d'étude découle de l'évaluation faite de ses différents aspects :

- la conformité légale doit être garantie par l'expérimentateur ;
- l'intérêt et la qualité scientifiques doivent être suffisamment établis ;
- les techniques et méthodes doivent être recevables ;
- les contraintes, ainsi que le devenir des animaux, doivent être décrits et acceptables.

La constitution de l'avis est réalisée par vote majoritaire de l'ensemble du comité.

L'avis est positif (en faveur de la réalisation de l'étude) ou négatif (en défaveur de la réalisation de l'étude). Il n'y a pas d'avis conditionnel dans la mesure où les conditions ont été débattues pendant la phase de préparation.

L'avis fait référence sans ambiguïté au projet approuvé. C'est particulièrement important quand des versions successives du projet d'étude ont été présentées au cours de la phase de préparation de l'avis ou quand l'expérimentateur introduit des modifications après l'approbation.

Il peut comporter un commentaire ou un résumé des échanges avec l'expérimentateur.

Il peut inclure l'expression d'avis minoritaires.

Il peut être révisé si de nouveaux éléments sont portés à la connaissance du comité par l'expérimentateur.

L'avis du comité a une validité qui correspond à la durée du projet présenté. Cependant, cette validité doit être limitée dans le temps compte tenu des évolutions réglementaires, scientifiques et techniques, ainsi que de l'évolution des critères éthiques. La validité de l'avis ne devrait par conséquent pas dépasser 3 ans, sauf exception justifiée. La durée de validité peut être indiquée dans l'avis. Au terme de ce délai, si l'étude ou le programme n'est pas terminé, une nouvelle évaluation éthique doit être faite.

L'avis est transmis à l'expérimentateur.

Tout changement notable du projet transforme le projet en un nouveau projet qui requiert un nouvel avis du comité avant d'être entrepris.

4 – Cas particuliers

L'évaluation éthique pose dans certains cas des questions particulières qui sont évoquées dans ce chapitre.

4.1 – Programme

Un programme est un projet cohérent qui vise à atteindre un but scientifique et qui comporte plusieurs études.

L'évaluation d'un programme s'appuie sur un document de saisine qui contient les informations de l'ensemble des études du programme. L'avis du comité porte sur le programme.

L'évaluation d'un programme présente des avantages par rapport à l'évaluation d'une étude. L'intérêt scientifique et la cohérence d'un programme sont parfois plus faciles à évaluer que ceux d'une étude. De plus, dans l'optique du principe des 3R, l'examen d'un programme complet permet une meilleure appréciation de la complémentarité des différentes approches méthodologiques (*in silico*, *ex vivo*, *in vitro* et *in vivo*).

Il revient à l'expérimentateur de choisir de demander l'évaluation de l'ensemble du programme ou bien l'évaluation des études du programme une par une. Le choix dépendra de la structure et de

la complexité du programme ou des études. Le but est de trouver le meilleur équilibre entre la cohérence et la quantité d'informations qui seront incluses dans le document de saisine. Un programme trop large sera trop hétérogène ou trop lourd pour une évaluation. *A contrario*, une étude trop isolée demandera des informations complémentaires pour que l'intérêt en soit compris. La durée est aussi un élément qui intervient dans le choix. Un programme peut avoir une durée de plusieurs années, or la validité de l'avis d'un comité ne devrait pas dépasser 3 ans. A l'échéance du délai, le programme, s'il se poursuit, devra être à nouveau évalué.

Le nombre d'animaux nécessaires est souvent difficile à évaluer précisément lorsque le projet de programme est soumis. Il revient à l'expérimentateur de définir une valeur basse et une valeur haute et les critères de décision.

En fonction de la complexité ou de certains aspects techniques du programme, le comité peut dans son avis demander qu'il soit à nouveau évalué à certaines étapes, ou bien que des informations lui soient communiquées pendant le déroulement des expériences.

4.2 – Etude préliminaire

Il y a des cas où des études préliminaires doivent être entreprises pour permettre la réalisation d'autres études, par exemple quand il s'agit de rechercher un point d'arrêt anticipé, de connaître la variabilité d'un paramètre afin de justifier le nombre d'animaux utilisés, de vérifier le bon choix d'une espèce animale, d'ajuster une gamme de doses du produit étudié ou encore de vérifier l'efficacité du protocole d'anesthésie ou d'analgésie.

Du fait du caractère exploratoire d'une étude préliminaire, le document de saisine peut manquer de précisions sur certains points. L'expérimentateur indique que, pour ces points, des décisions seront prises en cours d'étude, en fonction des observations réalisées, et il explique comment les décisions seront prises. Ceci permet au comité d'évaluer si les meilleures conditions sont réunies pour permettre la collecte des informations recherchées tout en assurant la protection des animaux. Le comité peut dans son avis demander à être informé des décisions avant leur mise en œuvre.

Les études préliminaires étant par définition un préalable aux études principales, la validité de l'avis du comité pour ces études ne devrait pas dépasser un an.

4.3 – Etude répétitive

Il est fréquent de réaliser des études similaires qui ne varient que par le produit testé et les doses administrées. C'est le cas de tests pharmacologiques de sélection (criblage), c'est aussi le cas de tests réglementaires de sécurité (toxicologie).

L'expérimentateur peut choisir de demander l'évaluation d'une série d'études similaires (étude répétitive ou standard) sous la forme d'un seul document de saisine. Le choix se fonde sur le caractère similaire de la justification scientifique, de la méthodologie et des techniques appliquées.

Le document de saisine pour une étude répétitive contient toute l'information requise pour l'examen d'une étude classique, mais pour un ou plusieurs items, c'est une gamme de possibilités et non une information précise qui est donnée.

Par exemple, au lieu d'indiquer le nom de la substance testée et son statut, l'expérimentateur décrit un groupe de substances qui a une caractéristique particulière. Cette caractéristique peut être une activité qui justifie une étude de pharmacologie ou un stade de développement qui exige une étude de toxicologie.

De même, pour des prélèvements sanguins, au lieu d'indiquer un nombre fixe de prélèvements, l'expérimentateur peut donner un nombre maximal et minimal. Les éléments qui détermineront le nombre exact de prélèvements réalisés pour chaque étude seront bien précisés.

Ainsi, dans le cas des études répétitives, l'expérimentateur doit expliquer quelles sont les variations envisagées et en définir les limites. Toute modification dans la gamme des variations, intervenant après avis du comité rend l'avis caduc.

En fonction de ces éléments, le comité peut accepter l'étude répétitive ou bien préférer examiner une par une les études, estimant que les variations envisagées sont trop larges pour être approuvées globalement.

Une étude répétitive peut être répétée pendant plusieurs années. A l'issue d'une période maximale de 3 ans ou d'une période plus courte choisie par le comité, l'étude, si elle se poursuit, sera évaluée à nouveau.

4.4 – Service central – Sous-traitance externe – Etude multi-sites

Un expérimentateur sous-traite une étude quand il décide de ne pas la réaliser au sein de son équipe.

Cette sous-traitance peut revêtir divers aspects. Elle peut s'appliquer à un service central d'expérimentation ou à un établissement extérieur. Il y a aussi le cas où différentes parties de l'étude sont réalisées dans différents centres d'expérimentation.

Dans le cas d'un service central d'expérimentation, l'expérimentateur et le responsable du service central rédigent conjointement le document de saisine qui comporte les items habituels tels que décrits dans ce guide. Chacun en rédige les parties en fonction de ses domaines de compétence.

Dans le cas de la sous-traitance à un établissement extérieur, l'expérimentateur et le représentant de l'établissement sous-traitant s'accordent en fonction des conventions d'établissements sur le choix du comité qui donnera un avis. Puis, tout comme dans le cas précédent, le document de saisine est rédigé par les intervenants.

Dans le cas où une étude est réalisée sur plusieurs sites, un seul comité est choisi pour faire l'évaluation du protocole, puis les différents intervenants rédigent le document de saisine.

5 – Travail du comité

Les établissements veillent à ce que les documents et l'information utiles à la rédaction des documents de saisine (formulaire, notice d'utilisation, référentiels) soient à la disposition des expérimentateurs.

Les expérimentateurs disposent d'une boîte à lettres papier ou électronique pour le dépôt des documents de saisine auprès du comité. Le président du comité organise leur prise en charge par le comité et leur distribution.

L'examen des documents de saisine est souvent réalisé par un sous-comité délégué par le président en fonction de son expertise. L'évaluation réalisée par un sous-comité est transmise au président.

Les demandes de complément d'information ou de modification sont envoyées par écrit aux expérimentateurs. De façon générale, le mode de fonctionnement du comité doit permettre de retracer les décisions et les interventions. Cette traçabilité est la garantie de transparence et d'indépendance du comité.

L'avis est constitué par le comité dans son ensemble (voir 3.2). Il est rédigé par son président ou un délégué et transmis à l'expérimentateur.

Les établissements adressent aux expérimentateurs les éventuelles demandes de diffusion complémentaires.

La politique de confidentialité des débats et des avis est définie par les établissements.

L'expérimentateur assure les retours d'information vers le comité tels que demandés dans l'avis.

Il apparaît donc que pour mener à bien sa mission d'évaluation éthique des études, un comité a besoin de moyens humains et logistiques conséquents. Il est de la responsabilité des établissements, garants du bon fonctionnement des comités, de s'assurer des moyens qui sont mis à disposition.

La constitution d'un comité pour plusieurs établissements est une possibilité de rassembler ces moyens, s'il est bien pris en compte que plusieurs établissements génèrent plus d'activité qu'un seul et demandent donc davantage de moyens humains.

6 – Conclusion

Ce Guide a pour vocation d'aider les comités d'éthique dans leur évaluation des études sur animaux. Il est le fruit du travail des comités d'éthique français.

Parti d'un besoin exprimé par l'ensemble des intervenants et par les autorités de tutelle, il marque une avancée dans la qualité de l'évaluation des projets de recherche. L'harmonisation des méthodes apporte une assurance de mise en œuvre de principes et de bonnes pratiques partagés par tous.

La protection des animaux en recherche va bénéficier de ce progrès, de même que la qualité des travaux de recherche.

Annexes

Les documents qu'il faut avoir

- Réglementation française de l'expérimentation animale
<http://gircor.net/recherche/reglementation.php>
- Hébergement des animaux
<http://conventions.coe.int/Treaty/FR/Treaties/Html/123-Arev.pdf>
(Depuis le 15 juillet 2007, l'Annexe A est remplacée par l'Annexe A révisée telle qu'adoptée par la quatrième Consultation multilatérale des Parties à la Convention, le 15 juin 2006)
- Fonctionnement des comités d'éthique locaux
http://gircor.net/questions/grice_presentation.php
- Fonctionnement des comités d'éthique régionaux
<http://ethique.ipbs.fr/sdv/ethiqueexp.html>
- Réglementation des essais sur les médicaments (ICH)
<http://www.ich.org/cache/compo/276-254-1.html>
- Réglementation des essais sur les produits chimiques (OCDE)
http://caliban.sourceoecd.org/vl_7788993/cl_21/nw_1/rpsv/cw/vhosts/oecdjournals/16843681/v1n4/contp1-1.htm
- Evaluation des contraintes
Classification prospective des expériences sur animaux selon leur degré de gravité (catégories de contrainte) (800.116-1.04)
<http://www.bvet.admin.ch/themen/tierschutz/00777/00778/index.html?lang=fr>

- Administrations de substances et prélèvements sanguins

A good practice guide to the administration of substances and removal of blood including routes and volumes (Technical group of EFPIA/ECVAM. Journal of Applied Toxicology 21, 15-23, 2001)
http://www3.interscience.wiley.com/cgi_bin/fulltext/76510682/PDFSTART

Refining procedures for the administration of substances. Report of the BVAAWF/FRAME/RSPCA/UFAW Joint Working group on Refinement (Laboratory Animals 35, 1-41, 2001)
<http://www.lal.org.uk/pdf/files/refinement.pdf>

Removal of blood from laboratory mammals and birds. First report of the BVA/FRAME/RSPCA/UFAW Joint Working Group on Refinement (Laboratory Animals 27, 1-22, 1993 et 28, 178-179, 1994)
<http://www.lal.org.uk/pdf/files/blood.PDF>

- Anesthésie et analgésie

Laboratory Animal Anaesthesia. P. Flecknell, Academic Press, 2nd edition (1996).

- Méthodes d'euthanasie

Recommendations for Euthanasia of Experimental Animals, Part 1. Felasa Working Party Report. Laboratory Animals, 30, 293-316 (1996).
<http://www.lal.org.uk/pdf/files/LA1.pdf>

Recommendations for Euthanasia of Experimental Animals, Part 2. Felasa Working Party Report. Laboratory Animals 31, 1-32, 1997.
<http://www.lal.org.uk/pdf/files/LA2.pdf>

AVMA Guidelines on Euthanasia (formerly Report of the AVMA Panel on Euthanasia), June 2007.
<http://www.avma.org/resources/euthanasia.pdf>

Les documents utiles

- Pour les comités d'éthique

Iacuc guidebook

www.grants.nih.gov/grants/olaw/GuideBook.pdf

Conseil Canadien de Protection des Animaux (CCPA)

<http://www.ccac.ca/>

- Principe des 3R

The principles of humane experimental technique. W.M.S. Russell, R.L. Burch. London, Methuen & Co Ltd., 1959.

Balancing Animal Research with Animal Well-being: Establishment of Goals and Harmonization of approaches. J.L. Weed, J.M. Raber. ILAR Journal 46 (2), 118-128, 2005.

- Soins et utilisation des animaux d'expérimentation

Manuel sur le soins et l'utilisation des animaux d'expérimentation (CCPA)

Volume 1 (édition 1993)

http://www.ccac.ca/fr/CCAC_Programs/Guidelines_Policies/GUIDES/ENGLISH/toc_v1.htm

Volume 2 (édition 1984)

http://www.ccac.ca/fr/CCAC_Programs/Guidelines_Policies/GUIDES/ENGLISH/toc_v2.htm

Guide pour les soins et l'utilisation des animaux de laboratoire (Institute for Laboratory Animal Resources, Commission on Life Sciences, National Research Council, 1996)

http://www.nap.edu/catalog.php?record_id=9852#toc

- Hébergement

Refining rodent husbandry: the mouse. Report of the Rodent Refinement Working Party. Laboratory Animals 32, 233-259, 1998.

<http://www.lal.org.uk/pdf/files/lab1566.pdf>

FELASA Working Group Standardization of Enrichment. Working Group Report.

http://www.lal.org.uk/pdf/files/FELASA_Enrichment_2006.pdf

- Plan d'étude

M.F.W. Festing, P. Overend, R. Gaines Das, M. Cortina Borja, M. Berdoy. The design of animal experiments. Reducing the use of animals in research through better experimental design. Laboratory Animal Handbooks Nr 14, The Royal Society of Medicine Press Ltd., 2002

Fundamental steps in experimental design for animal studies. J.E. de Aguiar-Nascimento. Acta Cir Bras. Jan-Feb 20 (1), 2-8, 2005.

<http://www.scielo.br/pdf/acb/v20n1/23280.pdf>

Guidelines for the design and statistical analysis of experiments using laboratory animals. M.F. Festing, D.G. Altman. ILAR Journal 43 (4), 244-58, 2002.

http://dels.nas.edu/ilar_n/ilarjournal/43_4/v4304festing_b.pdf

- Réduction

Sample size determination. R.B. Dell, S. Holleran, R. Ramakrishnan. ILAR Journal 43, 207-213, 2002.

http://dels.nas.edu/ilar_n/ilarjournal/43_4/v4304Dell.pdf

- Niveaux de douleur

La douleur de l'animal au cours d'une expérimentation. Comité régional d'éthique pour l'expérimentation animale de Rhône-Alpes.

<http://ethique.ipbs.fr/sdv/doulanimexp.pdf>

- Point d'arrêt

Choix d'un point limite approprié

http://www.ccac.ca/fr/CCAC_Programs/Guidelines_Policies/GDLINES/ENDPTS/APPOPEN.HTM

Humane endpoints in animal experiments for biomedical research

<http://www.lal.org.uk/endpoints3.html>

Humane Endpoints for Animals Used in Biomedical Research and Testing. ILAR Journal 41 (2), 2000.

http://dels.nas.edu/ilar_n/ilarjournal/41_2/

OCDE: Guidance document on the recognition, assessment, and use of clinical signs as humane endpoints for experimental animals used in safety evaluation (November 2000)

[http://www.oalis.oecd.org/olis/2000doc.nsf/ENGREFCORPLOOK/NT00002E46/\\$FILE/00087372.PDF](http://www.oalis.oecd.org/olis/2000doc.nsf/ENGREFCORPLOOK/NT00002E46/$FILE/00087372.PDF)

CNRS: Le « point limite » en expérimentation animale

<http://ethique.ipbs.fr/sdv/ptlimexpanim.pdf>

Classification rétrospective des expériences sur animaux selon leur degré de gravité (catégories de contrainte) (800.116-1.05)

<http://www.bvet.admin.ch/themen/tierschutz/00777/00778/index.html?lang=fr>

Pratique de l'éthique en toxicologie réglementaire : rédaction d'une procédure fixant des points limites. S. Picavet, Thèse de doctorat vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Nantes, 2004.

http://www.bibli.vet-nantes.fr/theses/2004/picavet4_21/frame.htm

Guidelines on recognition of pain, distress, and discomfort in experimental animals and a hypothesis for assessment. D.B. Morton, P.H.M. Griffiths. The Veterinary Record 116 (16), 431-436, 1985.

- Pour l'oncologie

UKCCCR Guidelines for the Welfare of Animals in Experimental Neoplasia (2nd Edition). United Kingdom Co-ordinating Committee on Cancer Research, London 1997.

http://www.ncrn.org.uk/csg/animal_guides_text.pdf

- Pour les neurosciences

Guidelines for the Care and Use of Mammals in Neuroscience and Behavioral Research (NRC 2003)

<http://www.nap.edu/catalog/10732.html>

- Outil de veille en expérimentation animale

<http://versa.tours.inra.fr/>

Recommandations admises en termes d'administration de substances et de prélèvements de sang.

D'après: A good practice guide to the administration of substances and removal of blood including routes and volumes (Technical group of EFPIA/ECVAM. Journal of Applied Toxicology 21, 15-23, 2001)

Les tableaux ci-dessous reprennent les valeurs chiffrées issues de la publication, notamment en ce qui concerne les volumes préconisés. Pour les aspects qualitatifs liés aux différentes voies d'administration ou de prélèvement, ainsi qu'aux caractéristiques des produits, il est utile de se référer au texte original.

Tableau 1 : Bonnes pratiques relatives aux volumes d'administration (et volumes maximaux tolérés)

Espèces	Voie et Volumes (ml/kg, à l'exception de *ml/site)						
	Ora e	Sous-cutanée	Intra-péritonéale	Intra-musculaire	Intra-veineuse (bolus)	Intra-veineuse (infusion)	Intra-dermique
Sour s	10 (50)	10 (40)	20 (80)	0,05* (0,1)*	5	(25)	0,05*
Rat	10 (40)	5 (10)	10 (20)	0,1* (0,2)*	5	(20)	0,05*
Lap n	10 (15)	1 (2)	5 (20)	0,25 (0,5)	2	(10)	0,1*
Ch en	5 (15)	1 (2)	1 (20)	0,25 (0,5)	2,5	(5)	0,1*
Macaque	5 (15)	2 (5)	- (10)	0,25 (0,5)	2	(-)	0,1*
Marmouset	10 (15)	2 (5)	- (20)	0,25 (0,5)	2,5	(10)	0,05*
M n porc	5 (15)	1 (2)	1 (20)	0,25 (0,5)	2,5	(5)	0,1*

Tableau 2 : Recommandations relatives aux volumes sanguins maximaux prélevés, par espèce animale en fonction du poids corporel

Tableau 2a : Volumes sanguins circulants chez les animaux de laboratoire

Espèces	Volume moyen * (ml/kg)	Intervalle de volumes moyens (ml/kg)	Poids	Volume sanguin (ml)	7,5 % (ml)	10 % (ml)	15 % (ml)	20 % (ml)
Sour s	72	63-80	25 g	1,8	0,13	0,18	0,27	0,36
Rat	64	58-70	250 g	16	1,2	1,6	2,4	3,2
Lap n	56	44-70	4 kg	224	17	22	34	45
Ch en (Beag e)	85	79-90	10 kg	850	64	85	127	170
Macaque (Rhésus)	56	44-67	5 kg	280	21	28	42	56
Macaque (Cynomom gus)	65	55-75	5 kg	325	24	32	49	65
Marmouset	70	? - 82	350 g	25	1,9	2,5	3,8	5
M n porc	65	61-68	15 kg	975	73	98	146	195

Tableau 2b : Limites de volumes sanguins prélevés et temps de récupération

% volume sanguin circulant prélevé en 24h	Durée de récupération
7,5 %	1 semaine
10 %	2 semaines
15 %	4 semaines
20 %	Euthanasie dans les 24 heures