

Méthodes alternatives à l'expérimentation animale : État des lieux et enjeux pour l'Ineris

Décembre 2023

L'étude des dangers des substances chimiques sur l'homme et les écosystèmes fait partie des activités historiques de l'Ineris. A ce titre, l'Institut s'est toujours inscrit dans une démarche de recherche et développement visant à limiter le recours à l'animal de laboratoire, tout en répondant aux enjeux liés aux dangers et risques émergents des polluants pour la santé humaine et l'environnement.

Contexte

A partir des années 2000, l'Institut s'est impliqué dans l'accompagnement de la mise en œuvre du règlement européen Reach et a, dans ce cadre, renforcé sa stratégie et son positionnement sur les méthodes alternatives à l'expérimentation animale.

L'avenir de l'expérimentation animale, régulièrement au centre de débats sociétaux intenses, est à nouveau mis en discussion avec l'adoption par le Parlement européen, en septembre 2021, d'une résolution pour accélérer l'abandon du recours aux animaux dans la recherche, les essais réglementaires et l'enseignement¹. Dans sa communication du 25 juillet 2023², la Commission européenne répond à l'initiative citoyenne enregistrée le 30 juin 2021 visant à garantir et renforcer l'interdiction de l'expérimentation animale pour les cosmétiques, réformer le règlement de l'Union sur les produits chimiques et moderniser la science³. La Commission propose des mesures supplémentaires pour réduire encore l'expérimentation animale et rappelle la réglementation européenne existante. Elle s'engage à proposer un nouvel ensemble de mesures législatives et non législatives pour réduire le recours à l'animal dans d'autres secteurs que la cosmétique, en particulier dans le cadre des produits chimiques, et à soutenir la recherche pour la mise au point de solutions alternatives.

Dans ce contexte, l'Ineris poursuit sa réflexion sur la trajectoire future de ses activités concernées par le débat,

à laquelle sa Commission d'orientation de la recherche et de l'expertise (Core), instance de dialogue avec les parties prenantes, est régulièrement associée.

L'expérimentation animale : état des lieux

Un débat sociétal ancien... et toujours vif

Fondement des sciences expérimentales depuis l'Antiquité, le recours à l'animal se généralise avec le développement de la recherche biomédicale au XVIII^e siècle. L'évolution des représentations culturelles se traduit cependant, dès le début du XIX^e siècle, par une sensibilité sociale plus forte au bien-être animal et aux droits des animaux. Les sociétés protectrices des animaux, qui se constituent tout au long du siècle (en 1845 en France) font émerger le débat, avec pour conséquence la toute première législation sur l'expérimentation animale (*Cruelty to Animals Act* de 1876 en Angleterre).

Le débat moderne a pour fondement une attitude générale de compassion spontanée vis-à-vis des animaux (en particulier les mammifères les plus proches de l'homme), fréquemment portée par le milieu associatif. A cette dimension émotionnelle s'ajoute l'apport de courants de pensée philosophiques contemporains, qui postulent une égalité de relation ou de statut entre l'homme et l'animal, soit qu'on reconnaisse à ce dernier une sensibilité ou une valeur morale (courant « utilitariste ») soit qu'on reconnaisse une continuité, une « parenté » entre

homme et animal (courant « antispéciste »). Enfin, le débat est nourri par la communauté scientifique elle-même, au sein de laquelle est questionnée la validité du modèle animal comme source fiable de connaissances pour les pathologies humaines et vétérinaires.

Avec la mise en œuvre de sa démarche d'ouverture à la société, l'Ineris s'est rapidement intéressé à la dimension sociétale du débat scientifique sur l'expérimentation animale. L'Institut a ainsi conduit en 2011-2013 un projet de recherche participative au sein du programme Repère du ministère chargé de l'Environnement, et auquel des membres de la Core ont pris part. Picaso Alternatives a ainsi exploré les attentes sociétales sur la place et le développement des méthodes alternatives en expérimentation animale. Ces travaux ont été intégrés au dossier [Ineris Références sur les méthodes alternatives en expérimentation animale \(2013\)](#).

L'utilisation des animaux à des fins scientifiques en Europe

Dans son rapport de 2019 relatif aux statistiques concernant l'utilisation d'animaux à des fins scientifiques dans les États membres de l'UE en 2015-2017, la Commission indique que depuis 2015, le nombre total d'animaux utilisés dans l'Union européenne est inférieur à 10 millions chaque année, contre 11,5 millions en 2011, traduisant une tendance à la baisse dans la durée. Cette tendance est confirmée pour l'Europe des 28 en 2018 (avec un nombre d'animaux utilisés inférieur à 9 millions) dans les statistiques les plus récemment mises en ligne⁴. A noter que ce dernier rapport inclut également les données de la Norvège qui impactent peu les tendances globales au niveau européen.

Par ordre d'importance, les souris, les poissons, les rats et les oiseaux représentent plus de 93 % du nombre total d'animaux. Les mammifères qui retiennent l'attention de la société civile (chiens, chats et primates non humains) représentent moins de 0,3 % du nombre total d'animaux.

En 2018, plus des deux tiers des animaux sont utilisés en recherche, fondamentale (46 %) ou appliquée (28 %), tandis que 18 % le sont dans le cadre de la conformité à des exigences réglementaires. 5 % des animaux servent à la production dite « de routine » (anticorps monoclonaux et produits sanguins) et 3 % à des usages divers (enseignement, enquêtes médico-légales, conservation des espèces et protection du milieu naturel...). En recherche fondamentale, les travaux sur le système nerveux, le système immunitaire, l'oncologie, l'éthologie et la biologie animale totalisent plus de la moitié des utilisations. En matière de recherche appliquée ou pré-clinique, les besoins se répartissent entre le cancer humain, les troubles neurologiques et mentaux chez l'homme, les troubles infectieux chez l'homme et les maladies et troubles des animaux.

Les utilisations visant à satisfaire aux exigences d'une législation sectorielle sont liées aux médicaments à usage humain (64 %), aux médicaments vétérinaires (16 %) et aux produits chimiques industriels (8 % en 2018 contre 11 % en 2017). Aucune utilisation n'est faite en cosmétologie, la réglementation européenne ayant totalement interdit le recours aux tests sur animaux en 2009.

Le cadre réglementaire

La loi du 10 juillet 1976 joue, en France, un rôle central pour le droit de la protection de l'animal, en inspirant les dispositions actuelles du Code rural, qui régit l'ensemble des pratiques vis-à-vis des animaux. À partir des années 1980, le droit communautaire européen devient une source majeure de dispositions pour la protection animale. La première directive européenne sur l'expérimentation animale est ainsi adoptée en 1986.

Aujourd'hui, la directive 2010/63/UE du 22 septembre 2010 (transposée dans le code rural et de la pêche maritime) encadre l'expérimentation sur les animaux vertébrés (et les mollusques céphalopodes), en traitant du type d'expériences réalisées, des expérimentateurs autorisés, des établissements d'élevage et d'expérimentation, des catégories d'animaux utilisés, de leurs conditions d'hébergement, d'enrichissement et de soins. Afin de prendre en compte le bien-être animal, l'article 4 demande l'application de la règle dite des « 3R » (réduire, raffiner, remplacer). L'article 13 exige que, pour une expérimentation donnée, soient mises en œuvre en priorité les méthodes, procédures ou stratégies n'impliquant pas l'utilisation d'un animal vivant, si elles existent et sont reconnues par l'Union européenne.

La règle des « 3R »

La volonté d'encadrer l'expérimentation animale a rapidement amené à deux considérations : éviter de recourir aux animaux à chaque fois que cela était possible ; lorsque cet usage ne peut être évité, définir des critères de souffrance ou de détresse animale acceptables selon la règle des « 3R ». La règle des « 3R », énoncée par les biologistes anglais W.M.S. Russell et R.L. Burch en 1959, constitue le fondement de la démarche éthique et des bonnes pratiques en Europe et en Amérique du Nord.

- / *Replace* (remplacer) : remplacer les modèles animaux à chaque fois que possible par des méthodes *in vitro* (modèles cellulaires) ou *in silico* (modèles numériques) ;
- / *Reduce* (réduire) : réduire le nombre d'animaux nécessaires pour atteindre un même objectif scientifique en expérimentation ;
- / *Refine* (raffiner) : optimiser la méthodologie appliquée aux animaux, notamment les conditions de

transport, élevage, hébergement, utilisation (limiter ou éviter la douleur et la souffrance subie par les animaux, en fixant des points limites – critères d'arrêt ou *end points* – et des actions correctives adaptées selon les cas).

Les méthodes alternatives : de quoi parle-t-on ?

Le rôle du règlement européen Reach

Le règlement européen Reach a constitué un tournant réglementaire. Depuis 2007, il impose aux industriels (retournement de la charge de la preuve) de fournir des données sur les propriétés physico-chimiques, toxicologiques et écotoxicologiques des substances chimiques avant leur mise sur le marché, ceci pour *in fine* favoriser une politique de substitution des substances les plus dangereuses. Une substance dangereuse peut être interdite par les autorités si les risques qu'elle présente ne peuvent être maîtrisés. Les autorités peuvent également décider de restreindre une utilisation ou de la soumettre à une autorisation préalable.

Compte tenu du très grand nombre de substances chimiques à évaluer, avec pour corollaire le recours aux animaux, le règlement souligne l'importance, en parallèle, de « promouvoir l'innovation et le développement des méthodes alternatives pour l'évaluation des dangers liés aux substances ». Les méthodes alternatives ne sont pas obligatoires mais la mise en œuvre de Reach « devrait chaque fois que possible reposer sur le recours à des méthodes d'essai de remplacement adaptées à l'évaluation des dangers présentés par les substances chimiques pour la santé et pour l'environnement. Il convient d'éviter l'utilisation d'animaux en recourant à d'autres méthodes validées ou reconnues ». Afin d'éviter la répétition d'essais inutiles et limiter l'utilisation d'animaux, la procédure impose également le partage des données et la soumission conjointe de l'information. Par ailleurs les tests sur vertébrés (non requis dans les annexes attachées à la bande de tonnage concernée) doivent faire l'objet d'une demande et d'une approbation par l'ECHA, l'Agence européenne des produits chimiques. Elle veille à l'application de la législation innovante de l'UE sur ces substances, contribue à la validation des méthodes et approches et promeut également le développement des méthodes alternatives dans le cadre de Reach⁵.

État des lieux des méthodes alternatives

Les « méthodes alternatives », expression créée en 1978 par le physiologiste britannique David Smyth, regroupent les techniques permettant de satisfaire un ou plusieurs principes des « 3R ». Ces méthodes sont aux fondements des nouvelles approches méthodologiques (NAM) de toxicologie dites « prédictives ». A noter que la plupart de ces NAM continue d'utiliser,

au moins pour partie, le modèle animal, mais visent à restreindre le recours aux expérimentations *in vivo* (sur organismes vivants).

Les alternatives de remplacement désignent les méthodes qui évitent ou remplacent l'utilisation des animaux dans un domaine où elle était jusqu'alors jugée nécessaire. Ces alternatives comprennent à la fois les remplacements complets/absolus, c'est-à-dire le remplacement des animaux par des systèmes *in vitro* (cultures cellulaires) ou *in silico* (modèles biomathématiques prédictifs utilisant des bases de données issues d'expérimentation *in vivo* ou *in vitro*), et les remplacements relatifs (c'est-à-dire le remplacement d'animaux dont la sensibilité est considérée comme élevée (les vertébrés), par un animal dont le potentiel de perception de la douleur est, selon les données scientifiques actuelles, significativement moins élevé (certains invertébrés).

Les alternatives de réduction désignent toutes les stratégies dont le résultat se traduit soit par une diminution du nombre d'animaux utilisés tout en garantissant que les données obtenues soient suffisantes pour répondre aux questions posées dans l'étude, soit par une optimisation de l'utilisation des animaux qui permet d'acquérir plus d'informations utiles à partir d'un même nombre d'animaux, sans pour autant augmenter la contrainte pour les animaux utilisés.

Les alternatives de raffinement (parfois appelé optimisation) désignent les modifications apportées à l'élevage ou aux procédures expérimentales afin de réduire la douleur et la détresse, et d'améliorer le bien-être des animaux utilisés pendant toute leur durée de vie tout en obtenant un niveau élevé d'informations pertinentes à partir de la même procédure. Elles couvrent aussi l'amélioration des méthodes existantes avec la détermination de paramètres de toxicité complémentaires qui permettent d'obtenir plus d'informations pour un même protocole expérimental initial et un même nombre d'animaux.

Afin de mieux structurer et intégrer les données *in vivo*, *in vitro*, *in silico*, *in chemico* (chimie analytique) etc., différents outils et méthodes ont été développés et ont évolué afin d'être replacés dans un cadre conceptuel : le mode d'action (MoA), les chemins (ou parcours) de l'effet adverse (i.e. nocif) (AOP), les stratégies de tests intégrées (ITS) et les approches intégrées en matière d'essai et d'évaluation (IATA). Le mode d'action et les chemins de l'effet adverse sont des concepts élaborés afin d'améliorer la compréhension de la toxicité des substances chimiques. Les stratégies de test intégrées et les approches intégrées en matière d'essai et d'évaluation sont quant à elles des méthodes destinées à être mises en œuvre en pratique afin de guider l'évaluateur sur la stratégie à appliquer pour évaluer une substance chimique. Les IATA sont une évolution méthodologique du concept des ITS, qui permet de mieux cadrer leur

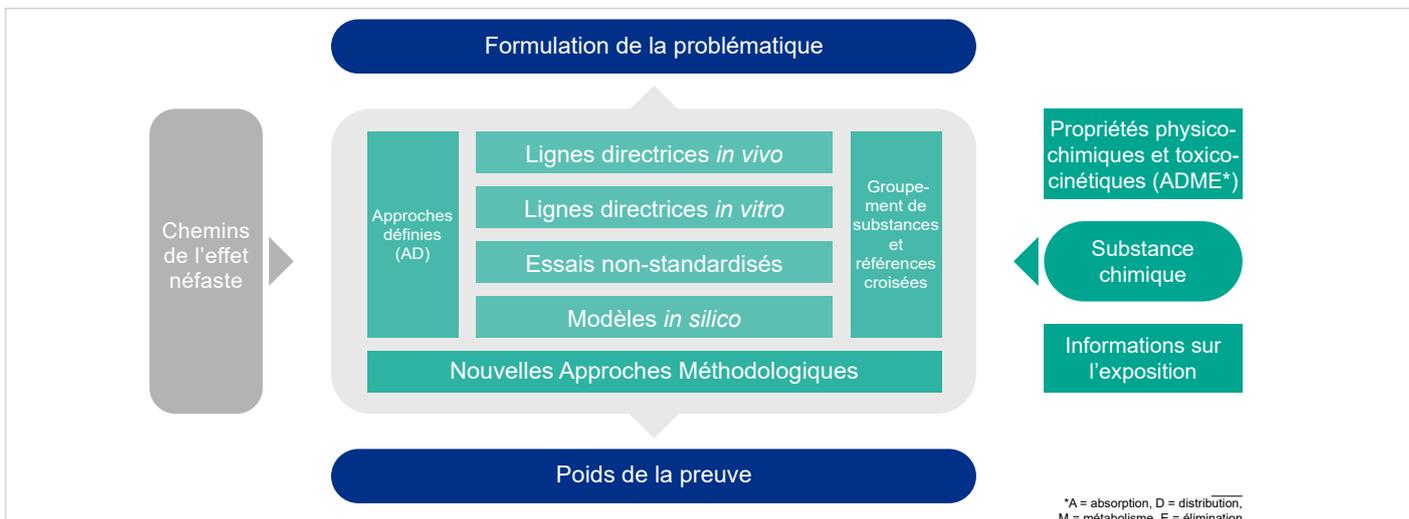


Figure 1 /

Les composantes des IATA

(schéma traduit du document : OECD (2020), *Overview of Concepts and Available Guidance related to Integrated Approaches to Testing and Assessment (IATA)*, OECD Series on Testing and Assessment, No. 329, Environment, Health and Safety, Environment Directorate, OECD.)

application grâce à l'établissement de méthodologies détaillées et de renforcer leur pertinence grâce notamment à l'intégration du concept d'AOP et des nouvelles évolutions concernant les méthodes *in silico*. Par ailleurs, la force probante des données est clairement discutée dans les méthodologies et un poids important lui est attribué par rapport aux ITS où la démarche consiste principalement à suivre une stratégie itérative d'essais *in vitro* jusqu'aux essais *in vivo*. Dans les IATA, l'ensemble des données est intégré dans un AOP et la force probante des données permet soit de conclure, soit d'identifier les lacunes et les essais supplémentaires nécessaires (Figure 1.).

Les enjeux autour de la validation

Le développement des méthodes alternatives est freiné par des difficultés à les faire reconnaître ou valider, comparativement aux tests sur animaux. Les méthodes alternatives constituent depuis longtemps un outil de travail pour la recherche, afin de mieux comprendre les mécanismes d'effets des substances sur les organismes. Leur développement s'inscrit donc naturellement dans les avancées des sciences du vivant, mais la transférabilité des méthodes développées en recherche mécanistique plus fondamentale vers l'essai réglementaire impose un passage par la standardisation et la validation rarement intégré par les chercheurs, long et peu (voire pas) financé.

En recherche, les méthodes sont reconnues par un processus de validation « par les pairs », principalement par le biais de publications dans des revues scientifiques (preuve de leur pertinence, de leur capacité à détecter les effets observés sur l'homme et l'animal). Cette validation peut être associée à des approches de type normalisation ou certification, qui apportent une preuve supplémentaire de reconnaissance.

La validation scientifique ne comporte toutefois pas d'exigence de standardisation. La validation réglementaire est quant à elle exigeante dans la mesure où une méthode recevable doit apporter, outre ce qui est demandé pour reconnaître scientifiquement une méthode, les preuves qu'elle est applicable de façon fiable et répétable. Au niveau international, l'Organisation de coopération et de développement économiques (OCDE) joue un rôle essentiel dans la validation des protocoles expérimentaux : ses lignes directrices constituent un ensemble de méthodes d'essais reconnues utilisées par les pouvoirs publics, l'industrie et les laboratoires indépendants pour évaluer la sécurité des produits chimiques. Dans l'Union européenne, le Centre de recherche commun (*Joint Research Center*) dispose d'un laboratoire de référence pour la validation des méthodes alternatives (EURL ECVAM), qui coordonne un réseau de laboratoires nationaux (EUR-NETVAL). Aux États-Unis, l'ICCVAM (Interagency coordinating committee on the validation of alternatives methods) assure ce rôle d'animation et de coordination. A noter qu'il n'est pas obligatoire de passer par ces laboratoires de référence pour valider des méthodes d'essai.

Les activités de l'Ineris

L'expertise sur les substances chimiques

En tant qu'expert national des risques technologiques et des pollutions, l'Ineris conduit depuis longtemps des travaux sur les substances chimiques et leurs effets, en s'appuyant sur une démarche d'évaluation « danger-exposition-risque ». Ce métier « historique » de l'Institut a été réaffirmé, en 2019, comme un axe fort de son positionnement au travers de deux activités-clés, « dangerosité des substances chimiques » et « écotoxicité et biodiversité ». L'Institut conduit des études pour mesu-

rer, caractériser et prédire les propriétés de danger des substances, produits et mélanges, ainsi que leur comportement chez l'homme et dans les milieux naturels. Sur la période 2021-2025, l'Ineris s'est fixé un objectif de maintenir, optimiser ou développer ses capacités expérimentales et de modélisation en la matière.

L'Institut s'appuie sur des laboratoires de toxicologie, d'écotoxicologie et de chimie analytique. L'installation d'essais de l'Ineris est reconnue conforme aux bonnes pratiques de laboratoire (BPL) dans les domaines suivants : études de toxicité, études écotoxicologiques sur les organismes aquatiques et terrestres, études portant sur le comportement dans l'eau, dans le sol et dans l'air (y compris bioaccumulation), méthodes de chimie analytique et cliniques (y compris métabolisme). Dans ce contexte, l'Ineris gère deux animaleries, une animalerie « poissons » (avec de l'élevage) et une animalerie « rongeurs » (rat et souris), qui inclut en outre des équipements pour l'étude de la toxicité de l'exposition à des substances chimiques par inhalation et l'étude des effets des champs électromagnétiques.

Le bien-être animal est au cœur des préoccupations de l'Ineris qui positionne clairement ses moyens expérimentaux au service du développement et de la validation de méthodes alternatives. A ce titre et conformément à ses obligations, l'Ineris dispose d'une structure chargée du bien-être des animaux (SBEA) depuis 2010 et participe au réseau national des SBEA depuis 2020. Les missions principales de la structure sont de conseiller et d'informer le personnel qui s'occupe des animaux, en particulier sur les exigences des « 3R », et de suivre, sur le plan du bien-être animal, le déroulement des projets lors de leur réalisation. L'Institut est également fortement impliqué depuis de nombreuses années dans le comité d'éthique régional dont le but est d'apprécier la compatibilité entre les procédures expérimentales proposées et les principes éthiques, afin d'aider l'expérimentateur dans sa démarche lorsque le recours à l'animal s'impose.

La toxicité systémique (exposition à des doses répétées, évaluation de la cancérogénicité et de la reprotoxicité) reste aujourd'hui, avec la toxicité environnementale, le domaine le moins bien couvert par le recours aux méthodes alternatives. Les besoins de recherche sont donc importants et la substitution totale ne peut pas encore être envisagée. Dans le champ des perturbateurs endocriniens, le recours à des logiques de criblage et de stratégies de tests intégrés faisant appels à des méthodes innovantes répondants aux 3R a permis des avancées majeures en écotoxicologie pour l'étude du mode d'action et des effets sur la physiologie des vertébrés aquatiques via l'utilisation de lignées cellulaires de poisson ou de lignées de poissons transgéniques. C'est un positionnement fort de l'Ineris.

L'Institut dispose par ailleurs, pour les méthodes alternatives, de laboratoires d'analyse de biologie cellulaire

et de capacités de modélisation numérique. Un système spécifique (Vitrocell®) permet d'exposer *in vitro* des cellules entières à l'interface air-liquide pour évaluer la toxicité de contaminants atmosphériques : c'est un matériel innovant en toxicologie par inhalation permettant de mimer l'exposition pulmonaire. Ce système, couplé à un banc de génération et de caractérisation des émissions mis en place par l'Institut, est par exemple utilisé dans le cadre de l'étude exploratoire SOTOX⁶ (Compréhension de la toxicité pulmonaire des sources majeures contribuant aux épisodes de pollution aux particules).

Des laboratoires sont enfin dédiés à l'étude des propriétés physico-chimiques dangereuses (inflammabilité, stabilité thermique, explosivité...), avec notamment une installation spécifique pour les substances sous forme particulaire (plateforme S-Nano).

Le développement des méthodes alternatives

Dès les années 1990, l'Ineris s'est impliqué dans le développement des nouvelles approches méthodologiques de la toxicologie prédictive, au travers de plusieurs axes et projets de recherche, dont une partie s'est appuyée sur les travaux portant sur la compréhension des mécanismes d'action des perturbateurs endocriniens (PE). Seules quelques illustrations sont listées ci-après, des informations complémentaires sur les différentes études évoquées peuvent être retrouvées, outre dans les publications et communications scientifiques *ad hoc*, sur le site ineris.fr.

/ En termes de méthodes de remplacement et/ou réduction *in vitro* :

- l'Institut a conçu un test pour évaluer le potentiel PE des substances chimiques, le test EASZY. Ce bioessai, fondé sur un modèle embryonnaire (stade de développement non couvert par la directive 2010/63/UE) de vertébré aquatique, utilise un poisson-zèbre (*Danio rerio*) transgénique, permettant, par imagerie en fluorescence de l'embryon, de détecter et quantifier l'expression et la perturbation d'un gène s'exprimant dans le cerveau en présence de PE. Le test EASZY est à l'origine d'une nouvelle ligne directrice de l'OCDE (ligne 250) pour caractériser les PE, publiée en juin 2021. Son utilisation ne se limite pas à la mise en évidence des propriétés PE des substances seules puisqu'il a permis d'investiguer des réponses endocrines dans le contexte de mélanges de substances simples ou complexes (matrices environnementales comme les eaux de surface ou les eaux usées).

- l'Ineris a développé en collaboration avec l'Inserm des tests biologiques à partir de lignées cellulaires humaines ou de poisson, visant à la détection rapide du caractère PE de substances.

A noter, ces tests *in vitro* présentent un potentiel d'utilisation plus large que la seule caractérisation des dangers (identification de contaminants dans l'environnement, surveillance de la qualité des milieux...).

- Des modèles cellulaires à l'interface air-liquide sont également développés et/ou appliqués pour évaluer la toxicité de substances inhalées (barrières pulmonaires, biopuce pulmonaire-hépatique...).
- / En termes de méthodes de raffinement et/ou réduction *in vivo* : l'Institut s'applique au travers de ses projets de recherche à raffiner des méthodes réglementaires telles que les tests OCDE 229 et 230 (essais d'expositions de poissons à court terme avec ou sans mesure de reproduction). Dans ce but, des lignées de poissons zèbres transgéniques cyp19a1a-eGFP(-casper) ont été utilisées dans ces tests afin d'apporter des informations supplémentaires (cinétique temporelle des effets des substances sur l'expression de l'aromatase gonadique par imagerie *in vivo* des animaux) par rapport aux tests OCDE classiques, sans augmenter le nombre d'animaux. L'usage de méthodes non invasives d'imagerie *in vivo* pour acquérir les données participe ici au raffinement.
- / En termes de modèles de remplacement *in silico* : l'Institut travaille principalement sur deux types de modèles, les modèles statistiques (Q) SAR (Relations (Quantitatives) entre Structure chimique et Activité biologique)) et les modèles toxicocinétiques PBPK (*Physiologically-Based Pharmacokinetic*). Les modèles QSAR s'appuient sur la caractérisation du lien existant entre une variation de la structure chimique et l'impact que cette modification structurelle a sur un effet biologique d'intérêt. L'Institut a ainsi contribué à la qualification de trois modèles QSAR prédisant le potentiel mutagène et carcinogène de substances chimiques (« système Benigni-Bossa ») et mis à disposition dans l'application logicielle QSAR Tool Box de l'OCDE. L'Ineris développe aussi des modèles QSAR pour aider à la paramétrisation des processus toxicocinétiques, tels que l'accumulation dans les tissus adipeux ou le métabolisme hépatique. L'approche QSAR est complétée par des travaux sur les modèles mathématiques QSPR (*Quantitative structure-property relationship*), qui prédisent les propriétés physico-chimiques d'une molécule à partir de sa structure. L'Ineris est à l'origine du premier modèle QSPR (explosibilité de composés nitrés) disponible dans la QSAR Tool Box. Les modèles PBPK prédisent, sur la base de données biologiques et physiologiques, le devenir d'une substance dans l'organisme : absorption dans le sang, distribution dans les organes, transformations biochimiques (métabolisation),

excrétion. Récemment, l'Institut a développé un modèle PBPK pour les populations sensibles que sont la femme enceinte et son fœtus en calibrant le passage transplacentaire de substances chimiques sur la base de données *in vitro* ou *in silico*.

- / Les stratégies de tests intégrées : l'évaluation de la performance de ce type de stratégies a fait l'objet de travaux de la part de l'Ineris, à la fois sur les incertitudes attachées aux modèles prédictifs et sur les coûts financiers et éthiques associés. L'élaboration de stratégies de tests intégrées, en particulier pour l'évaluation des perturbateurs endocriniens, dans l'objectif d'être reconnues par les autorités compétentes, est l'une des priorités du Contrat d'objectifs et de performance 2021-2025 de l'Institut. Les inflexions vers les méthodes alternatives ont conduit à l'émergence d'approches mécanistiques des effets néfastes améliorant ainsi leurs connaissances.
- / Comme abordé plus haut, les synergies existantes entre les méthodes alternatives en expérimentation animale peuvent être conceptuellement intégrées au sein du concept d'AOP qui permet une représentation schématique de la cascade d'événements déclenchés par l'interaction d'une substance avec une ou plusieurs cibles moléculaires et pouvant mener à un effet néfaste au niveau de l'organisme ou de la population. L'AOP est en train de s'affirmer comme concept unificateur permettant d'intégrer l'ensemble des informations toxicologiques (*in vivo*, *in vitro* et *in silico*) recueillies à plusieurs niveaux d'organisation biologique (subcellulaire, cellulaire, tissulaire...). Lorsque l'enchaînement qualitatif des différents événements est établi, une approche quantitative peut être envisagée. Des travaux sont par exemple en cours pour le développement d'AOP sur la neurotoxicité de substances chimiques chez l'humain ou sur les effets neuroendocriniens et reproductifs chez le poisson zèbre.

L'Ineris, acteur institutionnel des méthodes alternatives, de leur diffusion et de leur reconnaissance

L'Ineris assure, depuis plus de 15 ans, la coordination nationale pour l'ensemble du programme des lignes directrices de l'OCDE qui couvre, pour l'essentiel, le développement de méthodes, stratégies d'essai en lien avec la toxicologie et l'écotoxicologie. L'objectif de cette coordination est de faire le lien entre les instances de l'OCDE et les experts français impliqués dans le développement, la révision et l'amélioration des lignes directrices et des documents associés, que ces experts soient porteurs de méthodes ou participants dans les groupes d'experts.

Au niveau européen, l'Institut est inscrit dans le réseau de laboratoires nationaux pour la validation des

méthodes alternatives EUR-NETVAL et y représente la France. A noter que l'ECVAM, laboratoire de référence européen, s'appuie sur le réseau européen PARERE pour l'évaluation préliminaire de la pertinence réglementaire d'une nouvelle méthode alternative. L'Ineris représente également la France dans ce réseau. C'est aussi dans cette logique que l'Ineris a piloté au niveau national le projet d'élaboration de la plateforme public-privé PEPPER (Plateforme Public-privé sur la pré-validation des méthodes d'essai sur les Perturbateurs Endocriniens). Elle regroupe des associations professionnelles, des entreprises individuelles, la Fondation Maison de la chimie et des ministères impliqués dans la Stratégie nationale sur les perturbateurs endocriniens au premier rang desquels le ministère en charge de l'environnement. Issue d'un projet piloté par l'Ineris et notifié en juin 2019 par le Programme d'Investissement d'Avenir, la plateforme est dorénavant portée par une Association de Loi 1901, dont l'Assemblée générale constitutive s'est tenue le 2 décembre 2019. L'Ineris en est adhérent et est laboratoire partenaire pour la participation aux essais circulaires pour lesquels il est compétent.

En 2007, l'Ineris a participé à la création de la plateforme française pour le développement des méthodes alternatives en expérimentation animale, Francopa. Cette plateforme a pour but d'identifier et de promouvoir ce type de méthodes dans le développement, l'évaluation et le contrôle des produits de santé et des substances chimiques. Elle s'intègre à la plateforme européenne ECOPA (*European Consensus Platform on Alternatives*) et pourrait davantage œuvrer comme « cheville ouvrière »

du réseau PARERE. Francopa réunit les parties prenantes concernées par le développement des méthodes alternatives : la recherche académique, les autorités publiques, les acteurs économiques et le milieu associatif. Ses modalités de gouvernance et de fonctionnement ont évolué en articulation avec la création du centre national 3R (FC3R) porté par la loi de programmation de la recherche 2021-2030 promulguée le 24 décembre 2020. A noter, la publication du livre « Quelles alternatives en expérimentation animale ? » aux éditions Quae en 2020 co-porté par Francopa qui a été sélectionné en 2021 comme finaliste du prix Roberval récompensant des œuvres en langue française dont le sujet est l'explication d'une technologie.

Afin de mieux répondre aux enjeux de mise en visibilité et de partage de sa plateforme toxicologique (regroupant ses activités *in vivo*, *in vitro* et *in silico*), l'Ineris a obtenu en décembre 2022 la labellisation du groupement d'intérêt scientifique IBiSA (Infrastructures en Biologie Santé et Agronomie) : <https://www.ibisa.net/>. L'Institut est par ailleurs partenaire de l'infrastructure nationale de recherche France Exposome, inscrite sur la feuille de route nationale fin 2021 (<https://www.france-exposome.org/>). La plateforme toxicologique labellisée par le GIS IBiSA est mobilisée au sein de cette infrastructure, ainsi que les capacités analytiques de l'Institut.

Enfin, l'Ineris dissémine les connaissances acquises sur la dangerosité des substances vers l'ensemble des parties prenantes via son portail substances chimiques, en cours de refonte : <https://substances.ineris.fr/fr/>.

Pour en savoir plus :

[Institut national de l'environnement industriel et des risques \(ineris.fr\)](https://www.ineris.fr/fr)

Le site internet de l'Ineris dispose en particulier de pages dédiées aux méthodes alternatives à l'expérimentation animale et à Francopa :

<https://www.ineris.fr/fr/recherche-appui/focus/methodes-alternatives-experimentation-animale>
et aux activités OCDE :

[Activités de l'Ineris à l'OCDE : des nouvelles pages web disponibles | Ineris](#)

¹ [2021/2784\(RSP\) Procedure File: 2021/2784\(RSP\) | Legislative Observatory | European Parliament \(europa.eu\)](#)

² [COMMUNICATION DE LA COMMISSION relative à l'initiative citoyenne européenne \(ICE\) «Pour des cosmétiques sans cruauté - S'engager en faveur d'une Europe sans expérimentation animale». C\(2023\) 5041 final.](#)

³ <https://www.cosmeticsdesign-europe.com/Article/2023/01/27/European-Citizens-Initiative-for-cruelty-free-cosmetics-hits-1.2-million-votes-and-will-reach-European-Commission>

⁴ [Chemicals policy - Bibliothèque \(europa.eu\)](#) - Report of statistical information on the use of animals in procedure - SWD(2021) 204 - Parts A and B (May 2023)

⁵ The use of alternatives to testing on animals for the Reach Regulation, Fifth report under Article 117(3) of the Reach Regulation June 2023

⁶ [Résultats préliminaires du projet SOTOX sur la comparaison et compréhension de la toxicité des sources majeures contribuant aux épisodes de pollution aux particules | Ineris](#)