

## Dans ce numéro

**page 1**  
Editorial

**page 2 & 3**  
Les biopuces :  
Une solution pour  
la réduction?

**page 4**  
Interview :  
Suppression de la DL50?

## BPAM

Plate-forme belge  
des méthodes alternatives à  
l'expérimentation animale

La BPAM est un  
département scientifique de  
la Fondation Prince Laurent

## Pour contacter la BPAM :

BPAM  
Av. P. Deschanel, 36-38  
B-1030 Bruxelles - Belgique

Tel.: +32 (0)2 244 97 05  
+32 (0)2 243 08 97  
Fax : +32 (0)2 243 09 47

[www.fondation-prince-laurent.be](http://www.fondation-prince-laurent.be)

[bpam@fondation-prince-laurent.be](mailto:bpam@fondation-prince-laurent.be)

Compte bancaire BPAM  
603-1050018-37

# Editorial

Le premier numéro de BPAM-info était essentiellement consacré à une présentation générale de la règle, fondamentale, des 3 "R". Le deuxième numéro développait le Remplacement de l'expérimentation animale, la priorité de la BPAM. Ce troisième numéro traite de la Réduction lorsque le Remplacement ne s'avère pas encore possible. La Réduction du nombre d'animaux utilisés en expérimentation peut être réalisée de plusieurs façons.

Tout d'abord, certaines stratégies ou technologies visent à diminuer le nombre d'animaux nécessaires pour réaliser une expérience déterminée, sans pour autant compromettre sa valeur scientifique. Une étude statistique poussée, accompagnée d'une analyse appropriée des résultats, permet d'utiliser moins d'animaux tant globalement que par test tout en récoltant des données aussi valables que celles obtenues avec un grand nombre de sujets.

L'utilisation d'animaux plus "spécialisés", tels des espèces transgéniques ou des lignées consanguines de rongeurs, a ainsi été prise en compte pour effectuer certains tests.

Une autre voie de réduction consiste à ne pas répéter inutilement des tests qui ont fourni toutes les informations nécessaires et suffisantes du point de vue efficacité et innocuité pour un produit donné. Sur le plan international, on assiste à une harmonisation progressive des législations européennes, américaines et japonaises concernant les études à effectuer avant l'enregistrement et le lancement de nouveaux médicaments à usage humain. En Belgique, il est aujourd'hui interdit de répéter des tests sur animaux ayant déjà été pratiqués dans un autre Etat membre de l'Union européenne.

Cependant, certaines autorités nationales exigent encore des tests de contrôle pour des produits déjà mis sur le marché, après autorisation, en particulier pour les vaccins. Des animaux sont ainsi sacrifiés en grand nombre pour le contrôle de qualité parce que ces tests doivent être effectués pendant toute la durée de vie commerciale du produit, sur chaque lot individuel de vaccin fabriqué. Depuis juillet 2002, la Pharmacopée européenne plaide pour une réduction des tests sur animaux pour les vaccins, en se basant sur des études menées à l'Institut Paul Ehrlich, en Allemagne. Ces études ont montré que des milliers d'animaux pouvaient être épargnés sans porter préjudice à la sécurité ou à l'efficacité de ces produits.

Enfin une autre approche, particulièrement novatrice et performante, visant à réduire considérablement le nombre d'animaux dans un premier temps, voire à les remplacer dans un deuxième temps, est basée sur le développement des biopuces, décrites dans les lignes suivantes.

La BPAM a pour mission d'encourager pareilles initiatives, tant sur le plan européen qu'au niveau national, et se réjouit des progrès réalisés.

**Un des objectifs principaux de la BPAM :**  
"Promouvoir l'utilisation, le développement et la validation  
des méthodes alternatives à l'expérimentation animale"

# Les biopuces

## Les biopuces permettent de réduire le nombre d'animaux d'expérience utilisés

### Que sont les biopuces ou biochips?

Composées de carbone et de silicium, les biopuces ou biochips se présentent sous la forme d'un petit support en verre ou en silicone, généralement de forme carrée et de petites dimensions, de l'ordre d'un à deux centimètres, sur lequel est fixé du matériel issu du vivant, protéines, gènes, ou cellules. Développées depuis les années 90, les biopuces ou biochips sont issues de recherches interdisciplinaires menées en biologie, en microélectronique et en modélisation des processus.

Il en existe de trois types :

- les puces à ADN et à protéines (Molecule-On-Chip),
- les puces-laboratoires (Lab-On-Chip) et
- les puces à cellules (Cell-On-Chip).

Les biopuces à ADN portent à leur surface des brins d'ADN faisant office de sonde. Ainsi constituées, elles sont susceptibles de s'associer à des brins d'ADN complémentaires permettant de la sorte d'identifier rapidement une séquence génétique, impliquée par exemple dans l'expression d'une pathologie ou d'un processus toxique.

Les biopuces-laboratoires permettent, quant à elles, l'analyse rapide et performante d'un petit échantillon biologique.

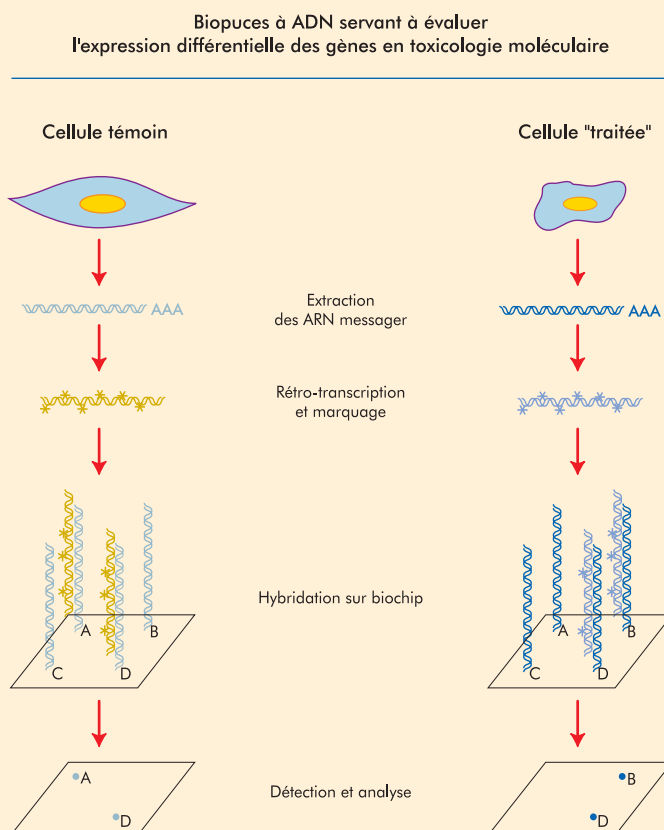
Les puces à cellules sont constituées d'une cellule vivante entière à l'échelle de laquelle il sera désormais possible d'évaluer à un stade précoce la toxicité et l'efficacité des molécules testées.

### Ethique et technologie

En plus des progrès escomptés dans les domaines de la science, de la technologie, et de la connaissance, un intérêt majeur des biopuces est de nature éthique puisqu'elles réduisent considérablement le nombre d'animaux d'expérience en détectant précocement les effets délétères des futurs médicaments en développement au niveau cellulaire et moléculaire. Leurs effets sur les hépatocytes, qui jouent un rôle important dans la détoxification des substances pénétrant dans l'organisme sont rapidement identifiables en discriminant les molécules potentiellement toxiques de celles qui ne le sont pas. Ces technologies permettent ainsi effectivement d'écarter des molécules pharmacologiques sans intérêt aux toutes premières étapes de leur développement, avant de procéder aux premiers tests toxicologiques sur l'animal en phase préclinique, ensuite chez l'homme, en recherche clinique.

### Validation

La validation de cette technologie consiste notamment en une analyse comparative du profil d'expression des gènes. Ainsi les biopuces sont-elles en train de devenir un outil performant de screening rapide et indispensable

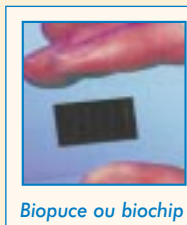


### Séminaire sur les méthodes alternatives au Parlement européen

Le 7 mai dernier, la BPAM participait, dans les locaux du Parlement européen à Bruxelles, au séminaire : "Alternative to Animal Testing : Opportunities and Limitations in the Regulatory Framework". Cette conférence était la première d'une série de séminaires organisés par AllChemE (Alliance for Chemical Sciences and Technologies in Europe). A cette occasion, le Professeur Coenraad Hendriksen de l'Université d'Utrecht a fait le point et donné son avis sur la situation actuelle en matière d'alternatives à l'expérimentation animale. Il a donné des exemples d'approches réussies et s'est penché sur la question de l'application de ces méthodes dans la législation. Des informations plus détaillées sont disponibles sur le site : <http://www.allcheme.org>.

en toxicologie. Les autorités responsables de l'enregistrement des médicaments imposeront probablement leur utilisation dans un avenir proche. Toutefois, avant ce stade, il faut accumuler suffisamment de données afin de distinguer dans les modifications de l'expression des gènes celles qui sont significatives des effets toxiques de celles qui ne le sont pas. Ce

domaine de la recherche est un travail particulièrement important auquel s'attachent actuellement des équipes de chercheurs de notre pays. Des banques de données concernant les modifications de gènes liées aux diverses molécules actuellement utilisées en thérapeutique et dont on connaît le profil de toxicité devraient être prochainement disponibles.



Biopuce ou biochip

### Puces à ADN dans des plaques à puits



Cellules non-traitées



Cellules traitées

Les Biochips agrandies et représentées ici mettent en évidence les effets toxiques induisant une expression différente du profil génétique dans des cellules mises au contact ou non d'une substance de toxicité connue. Chaque puits représente une séquence génétique. La toxicité se traduit par des changements de coloration observés entre les plaques sur certaines séquences génétiques. Les couleurs indiquent l'expression des gènes dans l'échantillon, le noir indique l'absence d'expression des gènes alors que le blanc montre une présence maximale.

### 3rd ecopa Workshop : Introducing and implementing 3R-alternatives into national, European and supranational/OECD - guidelines more efficiently Bruxelles, les 9-10 novembre 2002

Du 9 au 10 novembre 2002, la BPAM a participé à Bruxelles au troisième workshop ecopa au cours duquel les statuts définitifs de la Plateforme européenne ont été adoptés. La BPAM, membre cofondateur d'ecopa, félicite l'équipe actuelle présidant à la destinée de cette Plateforme européenne et se réjouit d'accueillir le siège officiel d'ecopa au sein de la Maison de la Fondation Prince Laurent.

### Ecran Témoin de la RTBF consacré à l'expérimentation animale

Le 9 décembre 2002, la RTBF invitait à participer au débat télévisé de "L'Ecran Témoin" consacré à l'expérimentation animale, des représentants de la protection animale, de l'industrie de recherche, des universités, et de la BPAM représentée par le Dr. Beaufays. Ce fut une nouvelle fois l'occasion pour la Plateforme d'affirmer son rôle d'acteur central dans ce débat et de démontrer sa spécificité de forum novateur interdisciplinaire ainsi que sa vocation de rassembleur.

### Toxicité hormonale *in vitro*

Divers produits chimiques peuvent exercer un effet nocif sur les ovaires et ainsi dérégler le système hormonal, ses cellules et la formation de follicules. Le laboratoire des Professeurs Johan Smits et Rita Cortvrindt (VUB) a développé et breveté un modèle *in vitro*, basé sur l'étude par culture cellulaire des mécanismes de régulation de la folliculogénèse et de l'ovogénèse. Celui-ci permet de dépister rapidement d'éventuels effets nocifs. Cette technologie permet également de diminuer le nombre d'essais sur animaux vivants. Ces tests *in vitro* seront mis à la disposition de l'industrie via la spin-off "EggCentris N.V." de la VUB.

EggCentris NV  
Kranenberg 6 • B 1731 Zellik  
Téléphone : + 32 (0)2 481 00 30 • Fax : + 32 (0)2 463 17 06

### Journée scientifique du 5 novembre 2002 sur la production *in vitro* d'anticorps monoclonaux

Une journée d'étude a été organisée dans les laboratoires de GlaxoSmithKline, conjointement par les Services Publics Fédéraux de la Santé Publique et la BPAM. Les chercheurs ont ainsi eu l'occasion de manipuler les équipements nécessaires au développement des méthodes *in vitro* et d'échanger leurs expériences et informations.

### Toxicité génétique et développement des biopuces

Le groupe de biotechnologie allemand Eppendorf AG regroupe ses activités dans le domaine des biochips en Belgique et acquiert une participation majoritaire dans le capital de la société namuroise Advanced Array Technologies (AAT), une spin-off issue du Laboratoire de Biochimie Cellulaire, dirigé par le Professeur José Remacle, des Facultés Universitaires de Namur (FUNDP).

EAT, Centre technologique  
Rue du Séminaire, 22 • B - 5000 Namur  
Téléphone : + 32 (0)81 724238 • Fax : + 32 (0)81 724135  
<http://www.eppendorf.com>

# Interview

## DL 50 : vers la suppression définitive?



Services Publics Fédéraux  
de la Santé Publique

**Dr Jean Belot**

Vétérinaire aux Services Publics Fédéraux de la Santé Publique, chargé du suivi de l'utilisation des animaux dans les expériences

### Quelle est la position du gouvernement belge par rapport à la DL 50?

La position de la Belgique concernant certaines expériences sur animaux est basée sur la loi du 14 août 1986 relative au bien-être des animaux et particulièrement sur l'article 24. Cet article précise qu'il faut limiter les expériences au minimum et utiliser moins d'animaux ou ne pas en utiliser quand les objectifs d'une expérience peuvent être atteints par une méthode qui fait peu ou pas appel à l'animal.

En règle générale l'adoption par la Belgique d'une méthode alternative remplaçant l'animal ou en limitant le nombre utilisé, suit la position de l'OCDE et de l'UE. Ces institutions évaluent toujours l'impact que peuvent avoir ces méthodes sur le respect des tests exigés pour la sécurité du consommateur en matière de produits, médicaments et additifs alimentaires à usage humain et animal. Ainsi, en matière de DL 50, l'Union européenne a précisé dans sa directive 2001/59/CE que le test classique de toxicité orale aiguë ne devait plus être utilisé depuis le 30 juillet 2002, excepté pour les tests concernant les produits phytosanitaires et les biocides. Pour ces derniers produits le test classique de la DL 50 sera interdit au plus tard le 30 juillet 2004.

### Quelles sont les progrès en vue en la matière?

Le développement de tests alternatifs au test classique de toxicité orale DL 50 est bien clair. L'OCDE a publié plusieurs lignes directrices concernant les méthodes qui utilisent nettement moins d'animaux et qui sont scientifiquement acceptées par tous. En raison de cette position de l'OCDE et de la directive européenne susmentionnée, l'arrêté royal du 24 mai 1982 qui fixe les méthodes de tests des substances dangereuses pour l'homme et son environnement a été modifié le 17 juillet 2002 pour effacer la

méthode classique de la DL 50. En ce qui concerne l'utilisation d'animaux dans les expériences, il est donc particulièrement clair que, pour le test classique de la DL 50, les laboratoires ne peuvent plus utiliser d'animaux depuis le 30 juillet 2002. La même règle s'appliquera au plus tard le 30 juillet 2004 pour les produits phytosanitaires et biocides.

### Avez-vous un message à faire passer concernant l'avenir de l'expérimentation animale en général et le développement des méthodes alternatives?

Un premier message "pratique" serait d'inviter chaque Commission d'éthique des laboratoires à porter une attention particulière sur le type de formation spécifique appropriée suivie par le personnel des laboratoires qu'elle a sous sa supervision.

Un second message de base, plus général, pourrait être celui de suivre les développements les plus récents en matière de méthodes alternatives, aussi bien sur le plan national qu'international. Par exemple, la "Food and Drug Administration" aux Etats Unis demande, pour les tests de toxicité requis par la législation, de remplacer les chiens par des mini-porcs. Cette approche mérite une attention. La stratégie d'orientation déclarée par le "Livre blanc" européen sur l'expérimentation animale et le test des substances chimiques, de promouvoir l'expérimentation non animale doit également être suivie.

On enregistre aussi ces dernières années une augmentation constante de la production d'animaux génétiquement modifiés et le nombre d'animaux utilisés pour cette production est donc aussi en augmentation. Les animaux modifiés produits peuvent être fortement atteints dans leur bien-être. Une attention particulière devra être apportée à l'hébergement de ces animaux qui ne correspondent pas à l'animal de laboratoire "classique". Un enregistrement de données chiffrées exactes sur les animaux génétiquement modifiés s'avère maintenant indispensable au niveau européen.

Le test de la dose létale médiane, retiré des procédures OCDE depuis le 17 décembre 2002 (procédure OCDE 401), est remplacé par trois modes d'évaluation de la toxicité orale aiguë utilisant un nombre réduit d'animaux : la FDP (Fixed Dose Procedure, ligne directrice 420), l'ATC (Acute Toxic Class Method, procédure 423) et l'UDP (Up-and-Down Procedure, ligne directrice 425).  
<http://www.oecd.org>