

Sécurité des substances chimiques et
expérimentation animale:

UNE MASCARADE RÉGLEMENTAIRE?

Rapport de la British Union for the Abolition of Vivisection (BUAV),
par Dr Gill Langley, janvier 2004
Traduit par Myriam Battarel



The British Union for the
Abolition of Vivisection



Coalition Européenne pour mettre
fin à l'Expérimentation Animale

LA BUAV ET LA COALITION EUROPÉENNE POUR METTRE FIN À L'EXPÉRIMENTATION ANIMALE

La British Union for the Abolition of Vivisection (Union britannique pour l'abolition de la vivisection) est le principal organisme mondial qui lutte de manière pacifique pour l'arrêt de toutes les expériences sur les animaux. En tant que structure à la tête de la Coalition européenne pour mettre fin à l'expérimentation animale, la BUAV fait le lien entre les groupes qui jouent un rôle clé dans l'action en faveur des animaux dans toute l'Europe, coordonne les initiatives de campagnes et veille à ce que le sort des animaux de laboratoire soit inscrit dans les préoccupations politiques majeures de l'Union européenne. En tant que membre fondateur de l'ICAPO (International Council for Animal Protection in OCDE Programmes), la BUAV se rattache aux différents groupes de protection des animaux en Europe, aux Etats-Unis et au Japon afin de faire entendre la cause des animaux de laboratoire au sein de l'Organisation pour la coopération économique et le développement (OCDE) qui coordonne les lignes directrices internationales sur les tests concernant les animaux de laboratoire du monde entier.

The Way Forward – une action pour mettre fin aux tests de toxicité sur les animaux

La campagne de la BUAV intitulée *Harmful if Swallowed* (danger en cas d'ingestion) a été lancée en 2000 pour protester contre l'empoisonnement massif de millions d'animaux de laboratoire au cours de tests toxicologiques à la fois cruels et scientifiquement douteux, effectués pour la politique européenne sur les produits chimiques. Si nous soutenons les points proposés pour cette politique européenne, à savoir, améliorer la réglementation en matière de produits chimiques et protéger la population humaine et l'environnement des substances nocives, nous ne pensons pas que l'expérimentation animale représente la meilleure méthode en terme d'éthique ni la plus fiable pour atteindre ce but.

En 2001, la BUAV a publié *The Way Forward : a non-animal testing strategy for chemicals* (« vers une stratégie alternative aux tests sur animaux pour les produits chimiques »). Ce document révolutionnaire a initié un débat au sein de l'Europe sur le potentiel actuel et à venir des méthodes de tests alternatifs en toxicologie, et a contesté les systèmes de réglementation à l'échelle mondiale qui reposent tous sur l'expérimentation animale, méthode désuète et cruelle. Tout en soulignant les insuffisances des tests sur animaux en toxicologie, cette campagne lançait un appel pour le financement ciblé du développement de méthodes d'expérimentation alternatives et pour la mise en place immédiate de tests autres que sur les animaux, à la fois au sein de l'Union européenne et à une échelle internationale.

Remerciements:

Nous remercions Myriam Battarel de son aide à la traduction de ce rapport. Sans elle, ce rapport n'aurait pas pu être publié en français.

British Union for the Abolition of Vivisection

16a Crane Grove, London N7 8NN, UK.

Tél : +44 (0)20 7700 4888 • Fax : +44 (0)20 7700 0252

Courriel : campaigns@buav.org • Web : www.buav.org

UNE MASCARADE RÉGLEMENTAIRE?

Rapport de la British Union for the Abolition of Vivisection (BUAV),
par Dr Gill Langley, janvier 2004

INTRODUCTION

Depuis plusieurs décennies, l'évaluation de la nocivité des produits chimiques et des risques liés à leur utilisation s'appuie fortement sur des données de tests effectués sur les animaux. La nouvelle stratégie de l'Union européenne concernant les produits chimiques continue d'utiliser les données issues d'expériences sur les animaux comme référence dans l'évaluation du degré d'innocuité des produits pour les humains et l'environnement.

La British Union for the Abolition of Vivisection ou BUAV est convaincue quant à elle que les résultats des tests sur animaux, dont la pertinence et la fiabilité sont incertaines, ne servent qu'à masquer la faiblesse des lois en matière de réglementation des produits chimiques et à permettre la commercialisation continue de substances qui devraient être interdites. L'évaluation des risques et dangers toxicologiques pourrait et devrait plutôt se faire de manière précautionneuse en se basant sur des méthodes alternatives aux tests sur animaux, auxquelles viendraient s'ajouter des programmes proactifs de surveillance de la population et de l'environnement.

Dans ce rapport, nous nous sommes appuyés sur diverses études de cas qui ont pu être effectuées par le passé sur les produits chimiques pour démontrer combien il est hasardeux de se fier aux résultats de tests sur animaux pour évaluer si les produits chimiques représentent ou non un risque pour l'environnement ou la santé humaine. Nous expliquons comment les données des animaux de laboratoires ont pu entraver le processus décisionnel en matière de réglementations, et conduire dans certains cas à retarder le contrôle sur certains produits, ou au contraire dans d'autres cas, à effectuer des vérifications qui n'étaient pas nécessaires.

Comment les résultats de tests sur animaux peuvent gêner la réglementation des produits chimiques :

- 1.** La réaction à un produit chez un animal d'une espèce, d'une race et d'un sexe donnés diffère de celle d'un humain ou d'un animal de laboratoire d'une autre espèce.
- 2.** L'absorption, la diffusion, le métabolisme et l'élimination d'une substance chimique ne se font pas de manière identique chez toutes les espèces.
- 3.** Les réactions tissulaires ne sont pas les mêmes à une échelle macroscopique ou microscopique chez les humains et les animaux, ou encore peuvent être observées dans des organes différents.
- 4.** Les différences au niveau anatomique, physiologique, cellulaire, subcellulaire, ou au niveau des récepteurs entraînent différentes susceptibilités à la matière toxique.
- 5.** La dose requise pour produire un effet toxique sur des animaux n'a souvent aucune probabilité d'être administrée aux humains.
- 6.** La dose que l'on souhaite tester pour les humains n'aura pas le même effet chez les animaux de laboratoire, ou le test n'offre pas suffisamment de précision.
- 7.** L'éventuelle interaction entre de nombreux produits chimiques auxquels les humains sont exposés ne peut pas être étudié en laboratoire sur des animaux.
- 8.** Les animaux de laboratoire (c'est à dire, des rongeurs génétiquement identiques issus de même souche) ne peuvent être représentatifs des autres membres de leur espèce, pas plus que de la population humaine.
- 9.** Les conditions expérimentales peuvent varier d'un test à l'autre.
- 10.** Les conditions expérimentales ne sont pas transposables à la situation réelle des humains.

Source : tableau 2, Gad, SC (1990). Model selection in toxicology : Principles and practice. J. Am. Coll. Toxicol. 9:291-302.

L'ÉVALUATION DES RISQUES

On prétend souvent que les tests sur animaux sont nécessaires pour obtenir une série de données concernant la nocivité d'un produit chimique, entre autres, les données sur le rapport dose/effet, l'absorption, la diffusion, le métabolisme et l'élimination, ainsi que sur les mécanismes de toxicité. La procédure d'évaluation des risques se base sur ces données pour décider ensuite comment classer et étiqueter un produit chimique, comment il doit être manipulé, et à quel point son utilisation doit être contrôlée (ou interdite). Les tests sur animaux sont effectués essentiellement pour évaluer la nocivité pour la santé humaine, mais certains le sont également pour les risques sur l'environnement (par exemple, pour la bioaccumulation ou encore pour l'intoxication des poissons).

L'évaluation de la nocivité est généralement perçue comme la partie la plus « scientifique » du processus, tandis que l'estimation des risques semble s'apparenter plus à une forme d'« art », où sont jaugées des informations dissemblables et parfois contradictoires. Les résultats ne sont souvent pas limpides et la décision pour adopter une réglementation doit se faire bien souvent uniquement sur le bon sens.

Par exemple :

- Les organismes de réglementation doivent examiner soigneusement les nombreux cas où les résultats de tests différents, particulièrement de tests sur animaux, ne concordent pas.
- Ils s'efforcent de juger quels types d'éléments peuvent servir de preuves, par ex. les données de tests sur animaux contre les données humaines.
- Si un produit chimique s'avère nocif à des doses élevées, ils doivent essayer de déterminer un seuil de tolérance à l'exposition de ce produit, s'il en existe un.
- Les organismes de réglementation essaient d'évaluer si une substance toxique constitue un danger réel, en se basant par exemple sur la probabilité d'exposition pour les humains et la faune.
- Ils doivent fréquemment effectuer ces évaluations en l'absence totale de données concernant l'exposition des humains et de la faune à ce produit.

Appliquées au domaine de la toxicologie, les techniques modernes alternatives à la vivisection, comme celles mises en avant par la campagne *The Way Forward*, augmenteraient considérablement la possibilité de combler les innombrables lacunes en testant les produits dans un laps de temps raisonnable, et amélioreraient la qualité et la pertinence des données disponibles pour la prise de décision concernant toutes les substances chimiques.

Les techniques alternatives à la vivisection peuvent se baser sur :

- la culture de cellules et tissus humains,

- la reconstitution de tissus (par ex., des tissus complexes reconstitués in vitro à partir de cellules simples),
- des études in vitro sur des enzymes et des protéines,
- des études de la fixation des récepteurs,
- des manipulations de l'expression des gènes in vitro (toxicogénomique),
- des modèles informatiques de relation quantitative structure-activité (appelés RQSA, ce sont des modèles utilisés pour prévoir les propriétés des substances chimiques à partir de leur structure moléculaire) et de biocinétique physiologique,[1]
- des études conduites dans le respect de l'éthique sur des personnes volontaires.

Nous démontrons dans ce rapport la nécessité de programmes modernes de contrôle, capables d'identifier dès les premiers stades l'accumulation et/ou la toxicité des produits chimiques à la fois dans l'environnement et dans les tissus humains.

Non seulement coûteuse, l'expérimentation animale pratiquée dans le but d'évaluer les dangers pour la santé humaine est une perte de temps, inflige des souffrances à des milliers d'animaux et présente de nombreuses faiblesses sur le plan scientifique.

Nous dénonçons ici ces faiblesses et décrivons des cas individuels où les données d'expériences sur animaux n'ont pas favorisé – ou bien même ont tout à fait empêché – l'adoption d'une réglementation optimale.

Se fier aux résultats d'expériences sur animaux peut fausser l'évaluation des risques pour les humains, et ce pour de nombreuses raisons. Nous nous basons ici sur cinq points essentiels, que nous développons dans les différentes parties de ce rapport. L'expérimentation animale pose problème à différents niveaux :

1. Problème d'extrapolation d'une espèce, d'une race et d'un sexe à l'autre.
2. Problème dans l'utilisation de petits animaux et de doses chimiques élevées.
3. Problème lié aux modes d'administration des produits lors des tests.
4. Problème lié aux différentes formes des substances chimiques.
5. Problème que posent les études basées sur les données animales qui ont réduit le rôle des programmes de surveillance.

TESTS SUR ANIMAUX: SECTION 1

PROBLÈME D'EXTRAPOLATION D'UNE ESPÈCE, D'UNE RACE ET D'UN SEXE À L'AUTRE

Les animaux (humains et non-humains) présentent fréquemment des différences d'une espèce, d'une race ou même d'un sexe à l'autre, en termes de réaction aux substances toxiques, de taux d'absorption et d'élimination des produits chimiques, ou encore au niveau des taux et du chemin métaboliques. Ces variations sont liées à des différences d'évolution dans l'anatomie, la physiologie, la pharmacologie, la biochimie et le métabolisme et représentent à elles seules l'immense faiblesse de l'expérimentation animale pratiquée dans le but d'évaluer la nocivité des produits pour la santé humaine.

Les organismes de réglementation reconnaissent que le degré d'approximation concernant la fiabilité des résultats des tests sur animaux les oblige à factoriser une marge d'incertitude lorsqu'ils doivent déterminer le niveau de nocivité d'un produit pour la population. Le seuil de tolérance à un produit que l'on va déterminer pour la santé humaine est obtenu par une réduction d'un facteur de 10, ou 100 (parfois plus) sur le seuil qui apparaît chez les animaux. Souvent, la dose est réduite d'un facteur de 10 pour compenser la différence entre les espèces, et encore réduite d'un facteur de 10 pour tenir compte des variations de sensibilité chez chaque personne humaine. Quand on se base uniquement sur des données animales, ces facteurs d'incertitude impliquent toujours une estimation approximative, démarche imprécise où l'on s'efforce de s'accommoder des limites inhérentes à l'expérimentation animale et qui n'a rien de scientifique.

Comme l'a reconnu la Commission européenne dans un rapport récent sur l'évaluation des risques, « le fait de remplacer une valeur par défaut afin de compenser soit une différence entre espèces, soit une variation humaine, par un facteur de majoration quantitative spécifique à chaque produit chimique, nécessite des données résultant d'expériences pratiquées **chez les humains** in vivo ou in vitro » (la BUAV surligne, traduction non officielle).

Les données humaines, recueillies soit à partir de tests sur des personnes volontaires, soit de programmes de contrôle, rendent caduque la nécessité de réajuster les résultats pour compenser la différence d'espèces. Dans les tests in vitro, le fait d'utiliser des cellules humaines in vitro permet également d'éviter ce problème des espèces, contrairement aux tests sur animaux, et l'expérience peut être conduite de manière à prendre en compte les différences de sensibilités que l'on peut trouver chez les humains.

ETUDE DE CAS : le bisphénol A

En 1986, le seuil de tolérance d'absorption journalière du bisphénol pour les humains a été calculé d'après une série de tests à doses répétées sur des rats sur une durée de 90 jours. Le calcul a consisté à diviser par un facteur de 500 la quantité « sans effet nocif observé » tolérée par les rats. Ce chiffre élevé était censé compenser les incertitudes considérables présentées par les données animales, parmi lesquelles les différences observées entre espèces.

On soupçonne actuellement le bisphénol A de provoquer une perturbation des glandes endocrines (un trouble hormonal) mais les tests sur animaux ne parviennent pas à le démontrer clairement. Trois races de rats - Wistar, Sprague-Dawley et Da/Han - réagissaient de manière différente au bisphénol A lors d'un test non validé tentant d'évaluer les effets perturbant les glandes endocrines (essai utéro-trophique). Dans ce test, les rats Sprague-Dawley semblaient être la race la plus sensible aux effets œstrogènes, mais moins sensible selon des études de reproduction multi-générationnelle (se reporter également à la partie V). A côté, les souris apparaissaient moins susceptibles que les rats aux effets utérins mais, contrairement à eux, présentaient de légères altérations du développement reproductif. Personne ne sait si les humains réagiraient de la même manière ou non que l'une ou l'autre sorte de souris ou de rat, et pas un de ces tests n'apporte d'éléments importants sur les différences de susceptibilité que peuvent présenter les divers groupes de la population humaine.

Scientifiques et organismes de réglementation sont perplexes quant à la diversité des résultats obtenus chez les différents animaux et pour des dosages variés. Le professeur Frederick vom Saal de l'université de Missouri-Columbia, cité dans *Nature*, affirme en ce qui concerne les éléments perturbateurs des glandes endocrines :

« Le fait est que les réponses à ces substances chimiques chez différentes races de souris peuvent s'échelonner de 1 à 1000 ou plus. La majoration par 10 adoptée pour la réglementation afin de compenser l'absence de certains résultats ou comme marge de sécurité prenant en compte la différence génétique est en décalage total avec les données. »

Cette variation génétique de réaction au bisphénol A s'explique en partie par le taux et le chemin métaboliques dans le corps. Le bisphénol A est rendu inactif par le métabolisme dans le foie, qui débarrasse le sang du produit. Des études ont été faites sur des rats pour mesurer la rapidité du processus, mais il était impossible de savoir si les rats étaient de bons

modèles pour les humains.

Les données essentielles de référence ont été fournies par une étude où était administrée une dose unique et faible à des humains volontaires. Cette étude a montré des « différences notables au niveau de l'élimination du bisphénol A selon les espèces ». Chez les rats en effet, le métabolite du bisphénol A reprend sa circulation entre le foie et l'intestin, ralentissant son élimination. Chez les humains, le bisphénol A est rapidement métabolisé et éliminé, environ 3 fois plus vite que chez les rats.

ETUDE DE CAS : l'amiante

Les effets toxiques de l'amiante sur les humains vont de l'asbestose au cancer du poumon en passant par le mésothéliome. Ils ont pu être découverts entièrement à travers des études conduites sur les humains (voir encadré suivant).

De nombreuses expériences sur animaux ont été faites pour l'amiante, dont 20 tests de cancérogénéité. L'espèce la plus couramment utilisée est le rat, mais l'application des résultats aux humains a fait l'objet de débats et polémiques pendant des dizaines d'années. En 1995, un rapport reprenait une analyse de données chez les rats et les humains et tirait la conclusion que les humains sont 300 fois plus sensibles que les rats à l'inhalation des fibres d'amiante, qui entraînent chez eux le mésothéliome. Ce qui a incité les scientifiques à déduire que « les études conduites sur l'inhalation par les rats ne sont pas suffisamment sensibles pour détecter les risques et la nocivité pour les humains exposés aux fibres de fabrication humaine. »

Une autre étude sur la nocivité de l'amiante chez les rongeurs affirmait : « Il existe de plus d'importantes dissimilitudes dans la manière dont les fibres se déposent dans les poumons chez les rats et les humains. Les expériences d'inhalation par des rats montrent que les risques de cancer du poumon liés à une exposition aux fibres sont 100 fois moins élevés chez les rats que chez les ouvriers qui travaillent au contact de l'amiante, et les risques de mésothéliome 1000 fois moins élevés. »

Cette différence entre espèces réside dans le fait que, à dose égales de particules toxiques inhalées, l'exposition réelle à ces particules ne serait pas la même pour les rats que pour les humains. Ceci est

attribué à plusieurs choses :

- le système respiratoire (les rongeurs respirent par le nez uniquement, et subissent en conséquence plus de dégâts dans la cavité nasale mais moins dans les poumons que les humains),
- la configuration des voies respiratoires (le schéma des bronches, les diamètres et les angles),
- la vitesse du mouvement de l'air lors de l'inspiration et de l'expiration des poumons,
- la présence de particules qui vont se déposer dans des zones dotées ou non de poils minuscules (cils) qui nettoient les voies respiratoires.

Les hamsters ont également fait l'objet de tests sur l'amiante. S'ils sont plus sensibles que les rats au mésothéliome, ils sont par contre plus résistants au développement du cancer du poumon lié à l'inhalation prolongée d'amiante. En plus de diversités anatomiques, il existe des raisons d'ordre cellulaires et moléculaires plus subtiles qui expliquent ces différences de réactions au produit selon l'espèce, et la vie de nombreux animaux a été sacrifiée pour les découvrir. Les hamsters réagissent aux fibres d'amiante par une inflammation des poumons plus légère et leurs défenses anti-oxydants sont plus efficaces que celles des rats.

Depuis tout ce temps, les résultats des tests sur animaux pour l'amiante font toujours l'objet de débats, et le seuil de tolérance à l'exposition des fibres est sans cesse révisé par les organismes de réglementation. La Direction de la Santé et des Sciences humaines aux Etats-Unis (US Department of Health and Human Sciences) a récemment émis une recommandation tout à fait pertinente sur le fait que des études sur les humains sont nécessaires pour dépasser le problème que posent les extrapolations d'une espèce sur l'autre : « des recherches supplémentaires sur le dépôt de fibres d'amiantes dans le corps humain et leur élimination devraient pouvoir aborder ce problème ». De plus, au lieu de continuer à étudier une substance chimique présentant une nocivité inacceptable pour la santé de la population humaine, l'adoption du principe de précaution éviterait le gaspillage de ressources en même temps qu'elle épargnerait la vie de nombre d'animaux.

Réglementation de l'amiante : données humaines versus données animales

Les effets néfastes de l'amiante chez les humains ont été découverts et compris exclusivement à travers l'étude de populations exposées, de 1900 à nos jours. Ces études, au nombre de 45 au total, ont fourni des données sur la relation dose/effet (que l'on recherche souvent dans les tests sur animaux) pour différentes formes d'amiante.

Au cours des années 40 et 50 aux Etats-Unis, l'industrie de l'amiante a essayé de réfuter les preuves des effets sur la santé humaine. La première plainte émanant d'une personne malade a été déposée en 1967 au Royaume-Uni ; elle a obtenu gain de cause en 1971.

Il est intéressant de noter que c'est également en 1967 qu'a été effectué le premier test de cancérogénicité sur plus de 20 espèces d'animaux. Pendant plusieurs décennies, la portée des résultats des tests sur animaux était incertaine, les rats apparaissaient moins sensibles à l'amiante que les humains.

Il faudra attendre 1969 pour voir apparaître au Royaume-Uni des réglementations contrôlant l'exposition des personnes à l'amiante, et 1971 pour les Etats-Unis. Celles-ci sont constamment révisées et remises à jour, mais il n'y a toujours pas de consensus concernant l'application des résultats d'une espèce à une autre.

ETUDE DE CAS : la coumarine

La coumarine est une substance naturelle utilisée comme parfum dans les cosmétiques, les produits de toilettes, et les produits ménagers. Les différentes espèces réagissent de manière totalement différente, que ce soit dans le métabolisme du produit ou au niveau de sa toxicité. Le chemin métabolique principal chez les humains est la 7-hydroxylation, et le corps humain convertit 79% de la coumarine en un métabolite inactif. Mais chez les babouins, le chiffre équivalent est de 60%, chez les rats il est moins de 1%, et chez les souris il est variable. Contrairement à celui des humains, le principal chemin métabolique chez les rats et les souris convertit la coumarine en un métabolite toxique.

La coumarine a fait l'objet de tests sur des souris, des rats, des hamsters, des chiens, des babouins et d'autres espèces. Dans les tests sur la toxicité et la cancérogénicité chez les souris et les rats, les

principaux organes touchés étaient le foie et les poumons, des tumeurs se formant à hautes doses. Les hamsters quant à eux semblaient résister à la toxicité de la coumarine.

Dans les années 70, la coumarine a été classée dans la catégorie I des produits cancérigènes sur la base des tests sur les rats et les souris. Cette classification a été changée, compte tenu du fait que le métabolisme humain réagit différemment de celui des rongeurs, d'un point de vue qualitatif et quantitatif, et elle n'est actuellement plus considérée comme pouvant entraîner un risque de cancer chez les gens. Cependant, vu le caractère aléatoire des tests sur animaux, il n'existe absolument aucune garantie que cette classification soit correcte

TESTS SUR ANIMAUX: SECTION 2

PROBLÈME DANS L'UTILISATION DE PETITS ANIMAUX ET DE DOSES CHIMIQUES ÉLEVÉES

La plupart des tests sur animaux font usage d'animaux de petite taille, qui ne vivent pas longtemps (les rongeurs), alors que les résultats sont destinés à être appliqués à des animaux de grande taille, à la durée de vie longue (les humains). L'utilisation d'espèces de substitution présente de nombreux inconvénients en termes de schéma expérimental et d'interprétation des données.

L'espérance de vie maximum d'une souris de laboratoire est d'environ 2 ans et celle d'un rat environ 3, mais elle peut varier d'une race à l'autre pour une même espèce. L'espérance de vie d'un humain peut aller jusqu'à 100 ans environ. Un individu humain pèse dans les 70 kg et peut mesurer jusqu'à 2m20. Les rats pèsent sur la balance moins d'un demi-kilo et la longueur de leur corps est d'environ 0,1m.

L'ajustement des données animales aux humains

Un ajustement est nécessaire pour compenser les différences de taux (par exemple, les taux métaboliques) ou de taille entre les animaux de laboratoire et les humains. Cet ajustement est important en toxicologie car le temps que met la substance chimique à se répartir dans le corps affecte profondément sa toxicité. Chaque étape du procédé d'ajustement ajoute un degré d'incertitude au résultat final.

Autrefois, l'ajustement des résultats des tests sur animaux aux humains se faisait en fonction du potentiel d'espérance de vie. Des scientifiques ont ensuite proposé que l'ajustement se fasse de manière proportionnelle au poids du cerveau et à l'élimination du produit par le corps. Les divers paramètres qui entrent en jeu lors des tests (comme le métabolisme ou la diffusion du produit dans le corps) peuvent nécessiter en effet la prise en compte de différents facteurs d'ajustement.

Actuellement, l'ajustement se fait généralement sur la base comparative du poids corporel ou de la taille de la surface du corps, mais ceci de manière entièrement empirique (voir encadré ci-dessous). Parfois l'ajustement des rongeurs aux humains se fait sur la base du ratio du poids corporel augmenté d'un facteur de 0,667. D'autres scientifiques ont suggéré d'utiliser 0,75 comme exposant, ce chiffre reflétant mieux les différences de taux métabolique

fondamental entre les rongeurs et les humains.

Quel facteur d'ajustement utiliser?

- L'espérance de vie humaine est 4,4 à 66 fois supérieure à celle des animaux de laboratoire couramment utilisés.
- Le sang d'une souris fait le tour de son organisme toutes les minutes, soit 20 fois plus rapidement que chez les humains.
- Plus la taille d'un animal est grande, plus le nombre de cellules susceptibles de réagir à une substance toxique est élevé.
- La surface totale d'un corps de souris, d'un rat et d'un humain est respectivement de 46,4 cm³, 516,7 cm³ et 18000 cm³, ce qui signifie des ratios de 1 :11 : 388.
- Le poids corporel d'une souris, d'un rat et d'un humain est respectivement de 20g, 400g, et 70000g, ce qui signifie des ratios de 1 :20 : 3500.
- Les taux de division cellulaire chez les rats et les souris sont environ le double de ceux chez les humains. Ces taux mettent en exergue de nombreuses réactions aux produits toxiques, telles que les réactions immunitaires des cellules et la génotoxicité.

Source : Gad, SC (1990). Model selection in toxicology : Principles and practice. J.Am. Coll. Toxicol. 9:291-302.

Toutefois, il apparaît clairement que l'on ne peut obtenir de résultats fiables des tests sur animaux pour prédire l'élimination d'un produit chimique par le corps humain sur la base des ratios de poids corporels. Pour les médicaments, le taux d'erreur dépasse les 30%, et pour les produits chimiques, l'incertitude est encore plus grande, car contrairement aux médicaments, il n'y a que peu de résultats d'essais cliniques pour confirmer ou contredire les données des tests sur animaux.

Des modèles informatiques sont en cours de développement qui, sur la base de données in vitro de systèmes d'enzymes humaines, peuvent prédire le taux d'élimination par le corps d'un médicament, et pourraient servir également pour les produits chimiques. Une forme modifiée du système informatique Simcyp a en effet jusqu'à présent fourni des résultats plus fiables pour déterminer l'élimination des médicaments que le système d'ajustement des données de tests sur animaux. Ce modèle permet également de tenir compte des variations d'un individu à l'autre dans l'élimination d'un médicament. Des modèles mathématiques de ce type, combinés aux données in vitro, pourraient remplacer l'expérimentation animale et donner de meilleurs résultats.

L'usage de mégadoses dans les tests sur animaux

Le fait que les animaux de petite taille aient une espérance de vie courte signifie que les animaux de laboratoire ne sont jamais exposés à des substances chimiques durant un laps de temps aussi long que les humains peuvent l'être. Certaines réactions sont plus ou moins longues à se faire ressentir, comme par exemple les tumeurs, ce qui rend l'extrapolation des rongeurs aux humains d'autant plus difficile.

Dans le domaine de la cancérologie, on ne peut obtenir des animaux de laboratoire suffisamment réceptifs pour détecter les faibles augmentations de risques qu'entraînent de petites doses de certains produits, sans avoir recours à plusieurs milliers d'animaux pour chaque test – ce qui est éthiquement inacceptable et irréalisable en termes de coût et de temps. On utilise ainsi des doses démesurées au cours des tests afin de maximaliser la sensibilité de l'expérience. Le même problème se pose pour certains tests sur animaux en génotoxicité, où cette méthode de mégadosage est également utilisée. Les tests *in vitro* sont évidemment bien plus sensibles aux effets chimiques.

Même dans le cas de tests de toxicité aiguë (une dose unique pour le corps entier), où le but est d'essayer de prédire la toxicité pour un organe cible, ainsi que les mécanismes toxiques chez les humains exposés à des doses bien plus faibles, l'étude peut être mise en doute par les scientifiques et les organismes de réglementation si tous les animaux auxquels ont été administrées les plus fortes doses survivent. Dans la réalité, la population humaine et la faune ne peuvent être que très rarement exposées à des doses de substances chimiques toxiques comparables à celles des tests.

L'utilisation de mégadoses dans l'expérimentation animale entraîne un bon nombre de problèmes dans l'interprétation des données. On part souvent du principe que le rapport dose/effet pour les produits chimiques va être linéaire et qu'il est possible d'extrapoler les résultats à des doses inférieures. Ceci a conduit à de nombreux modèles mathématiques différents mais les estimations sont variables et il existe de grandes marges d'erreur et d'incertitude. Les problèmes qui se posent sont, entre autres, le fait que les enzymes peuvent être saturées en présence de fortes doses chimiques, que la substance chimique peut être métabolisée d'une manière différente qu'elle ne le serait à des doses inférieures, les mécanismes de détoxification peuvent être réduits ou saturés, la biodisponibilité physiologique peut apparaître différente à cause des effets à un niveau local (par exemple, une lésion de l'estomac), et le fonctionnement des organes peut se trouver totalement bouleversé. Comble de l'ironie, ces arguments sont souvent mis en avant par ceux qui ont recours à l'expérimentation animale, afin de minimiser la validité des résultats positifs et empêcher l'adoption de réglementation décisive pour les produits chimiques dangereux.

ETUDE DE CAS : les blanchissants dentaires

L'utilisation de peroxyde d'hydrogène pour blanchir les dents qui ont perdu de leur éclat remonte au moins à un siècle. Le peroxyde d'hydrogène est testé sur les animaux - rats, souris, cochons d'inde, hamsters, lapins et chiens- depuis les années 70. Dans les années 80, le Food and Drug Administration aux Etats-Unis (organisme de surveillance des aliments et des médicaments, ndlt) a affirmé qu'il n'y avait pas « suffisamment » de preuves de cancérogenécité pour les humains, et selon l'Agence internationale pour la recherche contre le cancer, les preuves n'étaient que « minimales » dans le cas des animaux.

Un dentifrice blanchissant basé sur l'émission de peroxyde d'hydrogène a été introduit sur le marché autour de 1990, mais les deux années suivantes, le gouvernement britannique a tenté de l'interdire. Selon les Dr Kelleher et Roe, experts scientifiques qui ont témoigné en procès, le gouvernement se basait sur des craintes liées aux tests sur animaux dont les résultats indiquaient que le produit, nommé Opalescence, était cancérogène.

Réaction au peroxyde d'hydrogène chez différentes espèces

Les intestins contiennent une enzyme, la catalase, qui détruit le peroxyde d'hydrogène. Un taux peu élevé de catalase peut augmenter les risques de lésions intestinales, notamment de cancer.

Les souris, qui développent des tumeurs lorsqu'on leur administre du peroxyde d'hydrogène, ont un taux de catalase entre 70 et 1000 fois moins élevé que les rats.

Les intestins humains ont un taux de catalase entre 2 et 27 fois plus élevé que les souris (selon la race de souris), ce qui leur peut leur offrir une certaine protection contre les effets toxiques du peroxyde d'hydrogène.

Des tumeurs bénignes et cancéreuses ont été constatées dans les intestins de souris qui ingéraient du peroxyde d'hydrogène par l'eau qu'elles buvaient, mais deux autres études sur des rats n'ont rien rapporté de tel. Kelleher et Roe ont pointé le fait que les résultats

des tests sur animaux étaient inapplicables aux humains, principalement à cause des mégadoses administrées lors de ces tests.

Après plusieurs années de désaccord et de litige, des blanchissants dentaires sont à nouveau commercialisés, malgré l'incertitude quant à la dose limite de peroxyde d'hydrogène tolérée par les humains. Si, au lieu de poursuivre des tests sans fin sur les animaux, les chercheurs s'étaient efforcés d'effectuer une étude sérieuse sur les humains des risques que posent les dentifrices blanchissants commercialisés, les résultats n'auraient pas été faussés par ce problème de mégadoses.

ETUDE DE CAS: les sous-produits de la chloration de l'eau

En 1992, des études sur la population humaine ont suggéré que certains produits dérivés de la chloration de l'eau pouvaient avoir des effets nocifs sur le développement fœtal. Ces premières études révélaient notamment des risques de retard du développement chez le fœtus, et de problème de poids anormalement bas ou de malformations à la naissance chez les bébés.

La nocivité de l'eau chlorée

Drinking water is chlorinated as a means of disinfection. In Le chlore est utilisé dans l'eau potable comme désinfectant.

Dans les années 70, on a découvert que des produits chimiques (sous-produits de la chloration) se forment suite à des réactions entre le chlore et d'autres substances contenues dans l'eau. On dénombre actuellement plusieurs centaines de ces produits, parmi lesquels de nombreux semblent nocifs. C'est une question de santé publique majeure, car même si les risques ne sont pas très élevés, un très grand nombre de personnes sont exposées.

En 1993, l'Agence de protection environnementale américaine (US Environmental Protection Agency, EPA) a co-édité une revue faisant apparaître les preuves de la toxicité des sous-produits de la chloration sur la reproduction chez les humains et les animaux. Plusieurs tests sur animaux avaient déjà été effectués afin de

déterminer la toxicité des sous-produits de la chloration sur la reproduction et le développement fœtal, principalement chez les rats et tout particulièrement chez une certaine race. Les tests mettaient en exergue certains sous-produits de la chloration responsables de malformations à la naissance chez les rats et une probable nocivité pour les organes reproducteurs des rats et souris adultes.

Le rapport de l'EPA insistait sur le fait que les études sur les animaux étaient difficiles à interpréter car les tests utilisaient de fortes doses (à des concentrations bien supérieures à celles présentes dans l'eau potable) pour chaque produit. Très peu d'études s'étaient penchées sur la nocivité de l'eau potable elle-même, et de nombreux sous-produits chimiques n'avaient pas été testés du tout.

L'EPA concluait que des études sur les humains étaient nécessaires et que davantage de tests sur animaux seraient effectués. Elle déclara que « la question concernant les résultats de tests sur animaux où sont utilisées de fortes doses, extrapolés ensuite aux humains chez qui l'exposition ne se fait qu'en très faibles concentrations, doit être re-examinée », et suggérait que les extrapolations de situations de hautes doses à celles de faibles doses soient particulièrement approfondies. Malheureusement, le moyen d'effectuer ces extrapolations de manière fiable n'a pas encore été développé. Dix ans après, les études sur le développement de la toxicité sont toujours effectuées sur les rats et les doses utilisées continuent à être démesurément élevées. Une étude publiée en 2003 sur une substance chlorée, le MX, a utilisé plus de 100 rats femelles. L'adoption de réglementation fixant un seuil de sécurité pour l'utilisation des sous-produits de la chloration est toujours bloquée par les tests sur animaux qui continuent à servir de référence, plutôt que des méthodes de tests alternatives et des études modernes sur les populations humaines.

Les problèmes liés à l'interprétation de données basées sur les hautes doses administrées aux animaux ont également été rencontrés dans le cas d'un autre produit chloré, le trichloroéthylène (TCE). Le trichloroéthylène est un solvant industriel et un agent dégraissant qui contamine l'eau potable. En 1993, la réglementation de ce produit était basée sur les hautes doses administrées à des rongeurs à partir desquelles étaient extrapolés de manière linéaire les risques pour les humains exposés à de petites doses. Or, le processus de cancérogenèse n'est pas linéaire chez les rongeurs, dont les cellules ne meurent qu'à très hautes doses. Les tumeurs

cancéreuses apparaissent à la suite de plusieurs cycles où les cellules s'éteignent ou se régénèrent.

Les scientifiques ont indiqué que cette toxicité n'était pas liée à une dose proprement dite, mais révélait un effet de seuil limite : « Nous en concluons que les hypothèses qui sous-tendent les réglementations actuelles ne sont pas valables dans le cas du TCE. La détermination d'un seuil limite est préférable à un mode linéaire d'extrapolation ».

Les sous-produits de la chloration, les mégadoses et les risques de cancer

Chloroform is one of the chlorination by-products found in Le chloroforme est l'un des sous-produits de la chloration que l'on retrouve dans l'eau potable. Au début des années 90, l'EPA a imposé des normes très strictes sur le degré de chloroforme présent dans l'eau, à partir d'une étude montrant que les souris développaient un cancer du foie après ingestion quotidienne de doses massives du produit.

Nombre d'animaux sont morts avant que l'on s'aperçoive qu'il était impossible de déduire les effets de faibles doses à partir de la toxicité des mégadoses. Au milieu des années 90, l'EPA a reconnu les limites des tests standards de cancérogenèse chez les rongeurs et a admis la nécessité d'effectuer des analyses du rapport structure/activité du produit et des études mécanistes - qui peuvent se faire sans l'utilisation d'animaux.

« Des preuves indiquent de manière de plus en plus flagrante que les extrapolations à partir de mégadoses peuvent induire une fausse idée des effets possibles des faibles doses, ce qui a récemment conduit l'EPA à mettre en avant les données moléculaires. »

Stone, R. (1995). A molecular approach to cancer risk. Science 268 : 356-357.

TESTS SUR ANIMAUX: SECTION 3

PROBLÈMES LIÉS AUX MODES D'ADMINISTRATION DES PRODUITS

Dans les tests sur animaux, les modes classiques d'administration des produits chimiques sont la voie orale (par le biais d'un tube dans l'estomac, par la nourriture ou l'eau), les voies respiratoires, ou les injections intra-péritonéales (dans l'abdomen) ou sous-cutanées.

Les effets toxiques d'un produit peuvent être spectaculaires selon le mode d'administration. Par exemple, une substance ingérée qui sera rapidement absorbée par l'estomac et transmise dans le sang est susceptible d'affecter chaque organe du corps, mais elle rentrera également immédiatement dans le processus de métabolisme du foie, qui peut soit en neutraliser l'effet, soit la rendre encore plus toxique.

Un produit injecté dans l'abdomen ou sous la peau n'entre pas immédiatement dans le processus métabolique du foie. S'il est toxique, il peut donc causer des effets négatifs à des doses plus faibles qu'un même produit administré par voie orale. Les tests où un produit est administré aux animaux par différents modes peuvent ainsi donner des courbes différentes du rapport dose/effet et des chiffres du taux de toxicité différents. Dans ce cas, des études plus poussées sont poursuivies pour définir à la fois l'absorption du produit chimique par les différentes voies et le chemin et le taux métaboliques du foie. Il n'existe aucune certitude de retrouver les mêmes chiffres pour l'absorption et le métabolisme chez les individus d'une même espèce, ni d'autre part chez les humains.

Certains tests sur animaux ont recours à des modes d'administration inappropriés, qui ne sont pas transposables à la situation des humains. Par exemple, les tests sur animaux pratiqués dans le but de savoir si un produit peut causer des problèmes génétiques utilisent souvent la méthode d'injection directe du produit dans l'abdomen. Une estimation de l'effet du produit est faite à partir de l'observation des cellules présentes dans la moelle osseuse. Or ce mode d'administration est inapplicable à la situation réelle des humains et de plus, il peut être difficile de savoir si le produit pénètre ou non dans la moelle osseuse. Ceci augmente les faux résultats négatifs. De plus, même avec les tests par voie orale, les résultats peuvent s'avérer différents selon les moyens utilisés pour administrer le produit (voir encadré). Les résultats obtenus à partir de modes d'administration inappropriés produisent des données particulièrement peu pertinentes qui ne font que retarder l'adoption de réglementation.

Additifs alimentaires, modes d'administration et cancérogénicité

Des produits chimiques de synthèse souvent utilisés comme additifs alimentaires sont administrés aux animaux afin d'en tester le degré cancérogénicité. Le mode d'administration le plus fréquent est la voie orale, car les humains sont exposés à ces produits dans leur nourriture

Trois modes d'administration sont couramment utilisés : par un tube dans l'estomac, par l'eau ou par la nourriture.

Les données du Programme national américain de toxicologie (US National Toxicology Program) montre que sur 18 produits, mélangés à la nourriture, un seul a provoqué un cancer chez des rongeurs, mais que sur 23 additifs administrés par un tube dans l'estomac, 16 ont entraîné un cancer.

« Nous sommes convaincus, de par l'expérience qu'ont les humains des produits cancérigènes comme le tabac, l'amiante et le benzidine, que les substances cancérigènes présentes dans notre environnement représentent une réelle menace pour la santé humaine, mais évaluer les risques de cancers chez les humains à partir de tests sur des rongeurs entraîne bon nombre d'incertitudes...

Dans un intérêt de sécurité publique, un sérieux effort reste à faire pour résoudre les questions sur l'adjonction dans notre nourriture de produits chimiques connus comme étant cancérigènes pour les rongeurs. »

Johnson, FM (2002). How many food additives are rodent carcinogens ? Environ. Mol. Mutagen. 39 :69-90.

ETUDE DE CAS : le bisphénol A

Les scientifiques et les organismes de réglementation peinent toujours actuellement à comprendre les données contradictoires qui apparaissent dans les tests sur animaux du bisphénol A (voir parties I et V). Par conséquent, des tests de toxicité à long terme sur les fonctions reproductrices des rats sont régulièrement effectués par différents laboratoires, chaque test utilisant au départ jusqu'à 240 animaux adultes.

Un des rapports les plus récents d'une étude du bisphénol A sur les fonctions reproductrices de trois générations ne fait état d'aucune toxicité à faible dose par voie orale. Les auteurs ont passé en revue d'autres études qui présentaient des effets toxiques lorsque le

bisphénol A est administré par injection sous-cutanée à faibles doses, alors que des doses bien plus fortes étaient nécessaires par voie buccale pour atteindre un certain degré de toxicité. La raison est que le bisphénol A ingéré est métabolisé en un composé non toxique. Cependant, en l'absence d'éléments concernant la manière dont les humains absorbent et métabolisent le produit, les résultats sur les rats n'éclairent pas beaucoup quant à l'estimation des risques chez les humains.

Une étude unique sur des humains volontaires a apporté une énorme contribution dans l'interprétation et montré des différences flagrantes entre les espèces. Chez les humains adultes, le bisphénol A est rapidement métabolisé en une forme non-toxique identique à celle observée chez les rats mais cette transformation se fait trois fois plus vite que chez ces derniers. Cette étude de cas montre combien les résultats contradictoires des tests sur animaux peuvent retarder les décisions en matière de réglementation et démontre pourquoi des études conduites chez des volontaires humains dans le respect de l'éthique devraient être considérées comme une approche scientifique de choix.

ETUDE DE CAS : les blanchissants dentaires

L'agent actif contenu dans les blanchissants dentaires est le peroxyde d'hydrogène ou eau oxygénée. Ces produits se présentent sous forme de bandes blanchissantes ou de gel qui entre dans la composition d'une sorte de « gouttière » réalisée sur mesure que l'on applique dans la bouche.

De nombreuses expériences sur animaux ont été effectuées pour les dentifrices blanchissants, afin d'étudier les différents parcours de diffusion du produit dans le corps et les différents organes dans lesquels il termine son parcours, et les résultats se sont avérés très contradictoires (se reporter au chapitre II).

Sur la base d'une étude de toxicité aiguë chez les rats, les scientifiques se sont livrés à une évaluation des risques pour les humains et ont conclu que le peroxyde d'hydrogène était en quantité suffisante pour entraîner des lésions de l'estomac chez les personnes utilisant des blanchissants dentaires. Cependant, d'autres scientifiques ont réfuté les résultats des tests, avançant le fait que le mode d'ingestion du produit avait faussé les résultats. Celui-ci avait

été administré aux rats par un tube dans l'estomac et les détracteurs affirmaient que :

« les résultats sont difficiles à interpréter du fait de la présence de peroxyde de carbamide dans les blanchissants dentaires... Le mode d'administration n'a servi qu'à maximiser l'exposition des [muqueuses de l'estomac] sans permettre la dilution par la salive ou la nourriture. Le bon sens nous fait comprendre que c'est la concentration de peroxyde d'hydrogène qui agit sur des tissus particuliers et non la dose totale en mg/kg de poids corporel qui détermine les effets toxiques au niveau local. »

D'autres chercheurs ont tiré des conclusions contradictoires d'études sur la cancérogénécité du peroxyde d'hydrogène. Ils ont notamment émis des critiques sur une étude pour laquelle du peroxyde d'hydrogène avait été administré à des souris par l'eau qu'elles buvaient, lesquelles ont développé des lésions au niveau de leur intestin grêle. Selon eux, du fait de la dilution de ces solutions de peroxyde d'hydrogène (et des différences au niveau de l'estomac et des intestins selon les espèces), il était peu probable que le peroxyde d'hydrogène ingéré puisse même atteindre les intestins grêles des animaux. Ils affirmèrent également que les souris avaient bu moins que d'habitude (du fait de la présence du produit dans leur eau) et que les lésions intestinales résultaient d'une irritation causée par leurs croquettes de nourriture déshydratée. Les données obtenues de ces tests ne nous éclairent pas plus sur l'effet réel des blanchissants dentaires chez les personnes qui utilisent des produits couramment commercialisés et considérés comme inoffensifs. Les débats autour des modes inappropriés d'administration de produits ont miné l'adoption de mesures de précaution.

TESTS SUR ANIMAUX: SECTION 4

PROBLÈMES LIÉS AUX DIFFÉRENTES FORMES DES SUBSTANCES CHIMIQUES

De nombreux produits chimiques existent sous différentes formes apparentées (par exemple, l'amiante) ou sont un élément unique d'une grande catégorie de produits apparentés (comme les polybromodiphényléthers). Les tests réglementaires de routine sur les animaux sont effectués sur un seul produit à la fois car ils ne peuvent pas faire la distinction entre les différents effets chimiques. Si davantage de tests sur animaux sont parfois effectués pour des produits déjà commercialisés composés d'un mélange de diverses substances chimiques, les résultats n'en restent pas moins difficiles à interpréter.

Il peut arriver que l'adoption de réglementation sur un produit soit retardée afin d'effectuer d'autres tests sur animaux pour un autre produit apparenté. Dans les cas où il existe des douzaines ou même des centaines de produits dans une même catégorie, la réglementation ne peut pas et ne devrait pas être retardée tandis que l'on teste chaque substance. Des tests *in vitro* devraient être pratiqués et les modèles informatiques RQSA (relation quantitative structure-activité) pourraient être utilisés pour les produits de cette catégorie pour lesquels les données manquent. Dans le cas où l'on a connaissance de la nocivité de certaines substances chimiques, une expertise devrait être également conduite afin d'appliquer cette information aux produits apparentés.

Lorsque l'on prouve que les humains ou la faune sont exposés à un produit, qu'une substance est susceptible de s'accumuler dans les tissus organiques, ou qu'un produit est nocif, des mesures de précaution devraient s'imposer et le(s) produit(s) chimique(s) interdit(s).

ETUDE DE CAS: les retardateurs de flamme bromés

Les retardateurs de flamme bromés sont des produits chimiques omniprésents exploités en grande quantité. Les polybromodiphényléthers (PBDE) en constituent un tiers. Il existe au total plus de 200 formes apparentées aux PBDE. Ces formes sont très proches et présentent des propriétés similaires, qui varient selon le nombre et la position d'atomes de brome dans la molécule.

Les PBDE sont une cause importante de pollution de l'environnement ; ce sont des produits persistants (qui ne se dégradent pas dans la

nature, ndlt), et qui s'accumulent facilement dans les tissus organiques. Ils ont été retrouvés dans des sédiments, ainsi que dans l'organisme de saumons, de phoques, de baleines et d'autres espèces sauvages.

La population humaine est exposée aux PBDE principalement par l'air à l'intérieur des locaux et par la consommation de poissons contaminés. Le taux de PBDE présents dans le lait des femmes a augmenté de manière exponentielle depuis 1972, et a doublé tous les 5 ans, mais cela n'a été découvert qu'à la fin des années 90 lors de tests sur des échantillons de lait qui avaient été conservés. Les enfants nourris au sein se retrouvent en fin de chaîne alimentaire et sont de ce fait exposés à ces produits chimiques de manière extrêmement préoccupante. Des PBDE ont également été retrouvés dans le sérum sanguin et les tissus graisseux du corps humain. Même si l'on bannissait totalement et immédiatement cette substance, cela ne suffirait pas à empêcher les taux de croître dans les tissus humains et animaux pendant un certain temps.

Seules quatre études ont été faites sur les effets toxiques des retardateurs de flamme bromés chez les personnes y étant exposées dans leur profession, et l'une a révélé des effets sur la glande thyroïdienne et le système neurologique. Les problèmes de thyroïde sont notoirement causés par certaines substances chimiques qui perturbent les glandes endocrines.

Les PBDE sont apparentés dans leur structure à des toxines connues, les biphényles polychlorés (PCB) et les biphényles polybromés (PBB), et présentent un risque inquiétant pour la santé humaine comme pour la faune. Les PBDE sont également proches de composés qui sont toxiques pour le système immunitaire.

Les PBDE ont été soumis à plusieurs tests sur animaux, soit sous la forme de produits commerciaux (composés d'un mélange de substances chimiques), soit chaque produit séparément. Les tests ont montré qu'ils étaient nocifs pour la thyroïde, qu'ils favorisaient l'apparition de cancers et avaient des effets sur le développement neurologique : on a pu observer chez de très jeunes souris une diminution de leur faculté à apprendre et à mémoriser, ainsi qu'une altération de leurs réflexes. A propos de cette dernière observation, la Direction de l'Alimentation en Suède a déclaré : « nous ignorons ce que signifient ces observations sur l'altération des réflexes chez des souris néonatales en termes d'évaluation des risques pour les

humains. » La même chose pourrait être dite pour bon nombre d'autres tests sur animaux.

Les PBDE n'ont pas été interdits malgré les preuves qui montrent fermement qu'il s'agit de substances toxiques, bioaccumulatives et persistantes, et que de nouvelles contaminations sont continuellement observées chez les humains et la faune. Dans ces circonstances, plutôt que de poursuivre les tests sur animaux, des mesures de précaution devraient être suivies et ces produits interdits, d'autant que d'autres types de retardateurs de flamme existent (bien que plus coûteux).

Au lieu de cela, les personnes chargées de l'évaluation des risques trouvent à redire sur l'absence de certaines données, et réclament d'autres études sur les animaux, dont des tests sur d'autres substances de la même catégorie que les PBDE, ainsi que d'autres études sur la cancérogénécité, sur l'immuno-toxicité, la fonction de la thyroïde et le développement neurologique. La recherche vaine de données animales pouvant servir de référence retarde ainsi l'adoption de réglementation, exposant la population humaine et l'environnement à un risque croissant.

TESTS SUR ANIMAUX: SECTION 5

LES ÉTUDES BASÉES SUR LES DONNÉES ANIMALES EMPÊCHENT LA MISE EN PLACE DE PROGRAMMES DE SURVEILLANCE

Les séries de tests sur animaux de laboratoire en toxicologie se font de plus en plus, mais inévitablement, ils ne sont conçus que pour certifier une toxicité déjà reconnue.

Aussi ces dernières années les laboratoires se sont-ils efforcés de mettre au point de nouveaux tests sur animaux valables, afin d'étudier par exemple les effets négatifs sur des corps adultes, ou encore sur les systèmes immunitaire et nerveux en cours de développement, ainsi que sur les troubles hormonaux. Ces études se sont avérées à la fois très difficiles, lentes et coûteuses à mettre en place et à valider, en particulier celles sur les perturbateurs endocriniens. Pendant ce temps, la faune et la population humaine continuent à être exposées à des substances chimiques potentiellement toxiques.

Le système de réglementation des produits chimiques a toujours été fortement basé sur les données des tests sur animaux de laboratoire, mais la mise en place rétrospective de nouveaux tests, parfois des années ou des décennies après la première contamination par un produit, ne peut offrir une réglementation précautionneuse ou une protection adéquate.

Il existe deux solutions à cette impasse. La première passe par le développement de méthodes *in vitro* en laboratoire, valables pour une vaste série de points à tester en matière de toxicologie: ceux que l'on connaît déjà, et ceux qui ont besoin d'être approfondis. Ceci peut se faire avec des cellules humaines en éprouvette, car les nouvelles technologies d'imagerie rapide, telles que la scannographie de l'altération de l'activité génétique induite chimiquement (étude par microarray) ou la production de métabolites (métabonomique), peuvent indiquer des changements considérables dans la fonction habituelle des cellules. Ces tests seraient de loin plus rapides et moins coûteux que les études équivalentes sur les animaux ; de plus, au lieu de mesurer un seul point par test, ces méthodes *in vitro* permettent de scanner différents changements, qui révèlent différentes toxicités au cours d'un même test.

La seconde solution (tout aussi essentielle que la première) serait d'instiguer une surveillance généralisée en temps réel de l'environnement et de la population humaine. Contrairement à l'expérimentation animale sur de nouvelles toxicités, cette éventuelle approche permettrait d'identifier les produits chimiques dont on

soupçonne la nocivité, sur la base de notre exposition réelle à ces produits, ainsi que les effets cumulatifs chez les humains et la faune.

De nouveaux programmes proactifs de surveillance routinière doivent être établis en matière d'exposition humaine et environnementale. Ils doivent concerner la faune et les humains particulièrement exposés aux risques, mais également la population générale. Les analyses de données doivent être actuelles et non rétrospectives. Les programmes repèreraient les substances chimiques qui s'accumulent dans les sécrétions humaines (l'urine, la salive, le sperme, le sang, le lait) et dans l'environnement, et ils serviraient de systèmes d'alarme dès le premier stade d'émergence d'une matière polluante. A cela peuvent s'ajouter les marqueurs biologiques d'effets toxiques – les changements d'indicateurs moléculaires dans des échantillons tissulaires – qui feraient apparaître les premiers signes de toxicité.

Le développement et l'utilisation de marqueurs biologiques en matière d'exposition et de toxicité sont essentiels. Ils offrent des possibilités réelles d'obtenir des données humaines en termes de dose/effet, nécessaires à l'évaluation quantitative du risque, par exemple dans le cas de l'analyse de formes d'arsenic présentes dans l'urine de sujets au cours d'une étude sur les effets de l'arsenic en matière de santé humaine.

Les études sur la population humaine peuvent être difficiles à conduire de manière rigoureuse, à cause de facteurs qui faussent parfois les résultats, tels que l'alimentation, l'hygiène de vie, la prise de drogues et de contraceptifs. Ceci peut être résolu par une sélection soigneuse des populations étudiées, tenant compte des antécédents médicaux, de l'hygiène de vie et du degré d'exposition des sujets dans le cadre professionnel. Bien que d'une importance et d'une pertinence évidentes, ce type d'études a jusqu'à présent été sous-développé en raison du recours systématique à l'expérimentation animale.

ETUDE DE CAS : le tributyl étain

Cette étude de cas est inhabituelle dans le sens où les impacts néfastes du tributyl étain (TBT) sur l'environnement étaient tout à fait nouveaux et ont été repérés uniquement à travers des études de terrain.

Le TBT a été massivement utilisé contre l'apparition de certains organismes et il est actuellement un facteur général de pollution des fonds marins. Il a été essentiellement utilisé pour prévenir l'encrassement des coques de bateaux, pour stopper le

développement de crustacés et autres organismes, ainsi que pour protéger le bois. Il peut toutefois apparaître dans la composition de peintures, de tapis, et même dans le capitonnage de certains shorts cyclistes.

L'apparition du TBT dans la composition des peintures anti-salissures remonte aux années 60 ; dans les années 70, il était devenu le produit le plus couramment utilisé dans ce domaine. Des changements au niveau de la répartition sexuelle des crustacés marins ont été observés pour la première fois en 1970, et quelques années plus tard, des pêcheurs français notaient une diminution des bancs d'huîtres dans la baie d'Arcachon. Dans un premier temps, on a commencé à faire le rapprochement entre d'un côté, les changements observés au niveau de la répartition sexuelle et l'absence d'huîtres, et de l'autre, la présence en plusieurs endroits d'un grand nombre de bateaux traités au produit contenant du TBT. Une étude a ensuite révélé en 1981 que le TBT s'accumulait dans l'organisme des huîtres.

Les preuves qui auraient pu fermement démontrer la responsabilité du TBT ont fait défaut à l'époque, car les techniques d'analyse n'étaient pas suffisamment sensibles pour mesurer les taux de TBT présents dans l'eau. Néanmoins, suite à l'impact économique lié à la baisse de récolte d'huîtres dans la baie d'Arcachon, le gouvernement français a imposé en 1981 une interdiction temporaire de l'utilisation de produits anti-salissures contenant plus de 3% de TBT sur les bateaux de petite taille. A la même période, le gouvernement britannique s'est efforcé en vain de faire pression sur les industries afin qu'elles retirent les peintures à base de TBT. Il faudra attendre le milieu des années 80 pour que les techniques d'analyse permettent des mesures précises et fournissent la preuve que le TBT était bien l'agent responsable.

A la fin des années 80, de nombreux pays, dont le Royaume-Uni, ont introduit des restrictions, adoptées ensuite par l'Union européenne en 1991. Les taux de concentration de TBT dans l'eau ont chuté rapidement à l'échelle locale. Mais par la suite, une surveillance plus poussée au niveau environnemental a révélé des conséquences néfastes persistantes à l'échelle du globe, en particulier tout au long des voies maritimes principales, le TBT continuant de s'accumuler dans l'organisme des animaux marins. Une directive européenne a interdit formellement l'application de peintures à base de TBT sur tous les bateaux depuis 2003.

Il est probable que si l'on avait attendu les données de tests massifs sur des animaux de laboratoire pour adopter une réglementation, peu de contrôles auraient été effectués à l'heure actuelle sur le TBT. Des effets toxiques ont été enregistrés chez plus de 100 espèces d'animaux marins, alors que les données de tests en laboratoires auraient pris plusieurs années à être rassemblées. On a découvert que le TBT était irritant pour la peau et les yeux et pouvait causer des problèmes embryonnaires chez les rats, les souris et les lapins, mais ces données n'ont été disponibles qu'en 1992. S'appuyer sur des résultats de tests sur animaux aurait retardé l'adoption de réglementation, d'une part parce que l'observation de l'impact sur la reproduction chez les animaux implique des études sur le long terme et d'autre part parce que la pertinence de telles études (pour les autres animaux comme pour les humains) est incertaine. Les structures législatives discutent toujours à l'heure actuelle des risques possibles sur la santé humaine liés à l'exposition de la population par d'autres modes, comme la nourriture et les produits de consommation courante.

Les leçons à tirer de cette étude de cas sont qu'une surveillance de routine afin de contrôler la contamination chimique de l'environnement devrait être effectuée régulièrement et couramment de nos jours, et que les techniques d'analyse de précision sont essentielles dans ce processus. Un nouveau produit chimique ne devrait être introduit que parallèlement au développement de méthodes d'analyse appropriées pour l'eau, les sédiments, ainsi que pour les tissus humains, animaux et végétaux. Les observations et les analyses d'échantillons effectuées de manière régulière pourraient fournir des indications aux premiers stades de l'exposition à un produit chimique et/ou de contamination toxique, et devraient être suivies par l'adoption de mesures de précaution, comme l'avait fait le gouvernement français dans le cas du TBT, même s'il l'a fait pour des raisons économiques plutôt qu'environnementales.

ETUDE DE CAS : **le bisphénol A**

Le bisphénol A est un produit très répandu dans l'industrie, utilisé principalement dans la fabrication de plastique polycarbonate (qui entre dans la composition des verres de lunettes, des bouteilles, assiettes et verres en plastique, et des téléphones portables), et de résines époxy (pour les adhésifs, les sols industriels, l'emballage des

boîtes de conserve alimentaires, les cartes de circuits imprimées).

Des inquiétudes ont émergé ces dernières années concernant les effets nocifs potentiels du bisphéno A sur le système hormonal. Des tests spécifiques pour détecter les effets perturbateurs endocriniens n'ont pas encore été validés de manière formelle, mais de nombreux tests de toxicité pour l'appareil reproductif ont été effectués sur des rats et des souris. Des effets néfastes sur la fertilité de ces animaux, sur la prise de poids et le développement général de leurs petits ont été observés. Toutefois, les souris semblent plus sensibles que les rats et les résultats d'études chez les souris sont eux-mêmes parfois contradictoires. « Les implications de ces observations contradictoires dans l'évaluation des risques pour les humains sont difficiles à déterminer à l'heure actuelle », selon le rapport 2002 du Comité scientifique de l'alimentation humaine de la Commission européenne.

De plus, des tests sur certains animaux indiquaient l'apparition de troubles endocriniens, anormaux dans le cas de faibles doses de bisphéno A. Mais ces tests n'auraient pas suivi les procédés d'expérimentation « standards », et par ailleurs, d'autres tests révélaient des résultats différents. Il apparaît évident que les effets de troubles hormonaux entraînés par les produits chimiques varient énormément selon les espèces, les races et même les sous-races d'animaux utilisés, ainsi que des conditions environnementales dans lesquelles on les place. Les organismes de réglementation se sont donc trouvés dans une position très difficile, puisque personne ne sait lesquels de ces animaux, à supposer qu'une transposition soit possible, réagissent comme les humains.

Le Comité scientifique sur la toxicité, l'écotoxicité et l'environnement (CSTEE) de la Commission européenne a admis que les incertitudes ne pouvaient pas être levées par davantage d'études sur les animaux, dans le cas du bisphéno A et de la nocivité sur la reproduction. Ce point de vue rejoint celui de Robert Kavlock, directeur du département de toxicologie reproductive à l'Agence américaine pour la protection de l'environnement (US Environmental Protection Agency): « Je suis particulièrement perplexe face aux données du bisphéno A, que certains laboratoires voient comme un

œstrogène relativement fort, alors que d'autres n'en décèlent pas d'activité particulière. Cette énigme doit être résolue à un niveau mécaniste. » Les méthodes d'études génétique et protéomique des cellules et tissus humains peuvent nous apporter les réponses.

L'un des problèmes pour définir si les perturbations endocriniennes peuvent avoir des effets nocifs chez les humains reste l'absence d'une surveillance efficace. Il a été déclaré par exemple que la fertilité masculine faiblissait suite à l'observation du nombre décroissant de spermatozoïdes et de moindre qualité sur plusieurs années. S'il y a eu des tentatives sporadiques pour étudier ce phénomène, une surveillance bien uniformisée sur le long terme n'a jamais été mise en place.

La Société royale britannique a également conclu que l'évaluation de l'exposition à un mélange de substances entraînant des troubles hormonaux passe par « des méthodes alternatives et indirectes basées sur des études épidémiologiques de l'impact chez les humains ou la faune... ».

La réglementation efficace du bisphénol A ne devrait pas dépendre du développement de tests sur animaux validés qui ont une valeur scientifique incertaine. Les produits chimiques devraient être testés par d'autres méthodes existantes qui n'ont pas recours aux animaux (tels que les études de la fixation des récepteurs, les tests sur les gènes rapporteurs et les études sur le métabolisme stéroïde), qui aideraient à identifier rapidement les produits principaux entraînant des perturbations endocriniennes. Parallèlement, il serait urgent de valider une vaste série de méthodes d'expérimentation substitutives.

Le contrôle et l'analyse de tissus humains fourniraient des données réelles sur l'exposition aux produits des différents groupes (et non des données basées sur des calculs). Une méthode d'analyse pointue pour déterminer l'action du bisphénol A dans le placenta a été mise au point mais n'a été rendue publique qu'en 2001 ; le produit a été trouvé dans le placenta à la suite d'une consommation d'aliments normaux. Une étude très récente sur l'absorption, le métabolisme et l'élimination du bisphénol A par l'organisme de personnes volontaires a été suivie, et les résultats « ont indiqué des différences majeures entre les espèces ». A travers l'utilisation de données humaines significatives comme celles-ci, des contrôles pourraient être adoptés par mesure de précaution – et sans plus attendre d'autres études sur des rongeurs.

ETUDE DE CAS: Les retardateurs de flamme bromés

Comme nous l'avons vu dans la section 4, la famille des PBDE de retardateurs de flamme bromés est un exemple de cas où l'étude des tissus humains a mis en exergue un risque de santé publique grave.

A la fin des années 90, des échantillons de lait humain prélevés et conservés au cours des décennies précédentes ont été analysés pour tester la présence de PBDE. Il a été découvert que ces produits chimiques avaient augmenté dans les échantillons de lait humain à un taux exponentiel en 25 ans. Les enfants nourris au sein étant de fait en bout de chaîne alimentaire, ils sont exposés aux PBDE de façon extrêmement inquiétante, ce qui a entraîné un certain nombre de tests sur animaux.

Bien que l'on sache encore relativement peu de choses sur leur toxicité, la mise en place de réglementation ne devrait pas attendre les résultats d'un programme entier de tests sur animaux. Même si l'on interdisait maintenant les PBDE, cela ne les empêcherait pas de continuer à s'accumuler dans le lait des femmes et dans l'environnement pendant plusieurs années. Si les échantillons de lait avaient été analysés à l'époque du prélèvement, et non 25 ans plus tard, il aurait été possible de prendre des mesures bien plus tôt. C'est pourquoi une surveillance en « temps réel » ainsi que la mise en place de programmes d'analyse sont essentielles.

Une nouvelle approche

Le système actuel de contrôle des produits chimiques accorde trop de crédit aux résultats de l'expérimentation animale et, loin de fournir des preuves solides sur leur dangerosité, il a conduit à des retards dans la classification et la surveillance de certaines substances ou encore à une mauvaise classification.

Les tests peuvent être prévus pour fournir un grand nombre de données, mais si celles-ci ne sont pas applicables aux situations réelles, elles n'ont aucune valeur. Comme nous l'avons expliqué, il existe de nombreuses incertitudes : la transposition de données recueillies sur de petits animaux à des animaux de grande taille ; l'extrapolation à partir de mégadoses administrées aux animaux à de petites doses chez les humains ; les facteurs aléatoires pour compenser les différences entre les espèces. Les résultats des tests sur animaux, loin de fournir des preuves solides sur les risques pour la santé humaine, offrent aux organismes de réglementation d'éternelles possibilités de retarder les contrôles ou l'interdiction des produits chimiques. Parce que les données sont tirées de

situations irréalistes, utilisant des « modèles » qui ne sont pas fiables (d'autres espèces d'animaux), l'interprétation est très difficile. Basées sur les résultats de ces tests, les prises de décisions en matière de réglementation sur un produit risquent d'être retardées par :

- le rejet des résultats d'un laboratoire prouvant la toxicité (parce qu'ils sont contradictoires avec d'autres ou bien impossibles à reproduire),
- un trop grand crédit accordé aux tests sur animaux et pas assez aux preuves apportées par les humains,
- la réalisation de plus en plus de tests sur animaux en raison d'un manque de données aussi minime soit-il,
- la proposition d'effectuer davantage de tests sur diverses espèces d'animaux pour voir si les « mécanismes » de la toxicité peuvent être particulier à une seule espèce, et donc non applicables aux humains,
- la demande de mise en place de nouveaux types de tests sur animaux en raison de préoccupations sur de nouvelles formes de toxicité,
- l'engrenage des tests sur animaux : les produits chimiques comme l'amiante fournissent un nombre de données particulièrement élevé et parfois des listes entières de résultats, mais la nature précise des risques

Les systèmes de réglementation dépendent de l'expérimentation animale depuis bien trop longtemps, et celle-ci est en partie la cause de la crise actuelle dans la gestion des produits chimiques. Loin d'apporter une solution à la menace que posent les produits toxiques, l'expérimentation animale ne fait que s'ajouter au problème. Il est essentiel, et ce pour des raisons éthiques, pratiques et de sécurité que soit mis un terme aux tests toxicologiques basés sur l'expérimentation animale.

A travers l'adoption de principes de base et de mesures officielles, une stratégie peut être développée en matière de substances chimiques, qui mettrait en avant les questions médicales et environnementales et qui, plutôt que d'empêcher l'adoption de réglementations, la rendrait possible. Ces principes et mesures sont d'ordres divers :

1. Des méthodes alternatives aux tests sur animaux, de préférence basées sur des cellules humaines et des systèmes informatiques, devraient être mises en place et remplacer l'expérimentation animale.
2. De nouveaux programmes devraient être établis afin d'arriver à des données humaines de haute qualité en matière d'exposition aux produits et de taux de toxicité, aussi bien à partir d'une surveillance régulière de la population générale que de celle des personnes exposées par leur profession ou encore celles exposées à une surdose accidentelle ou à des accidents de pollution.

3. Des programmes de contrôles réguliers de l'environnement devraient être instaurés (au moyen, par exemple, du prélèvement d'échantillons d'eau, de sédiments, de plantes et de tissus animaux).
4. L'utilisation de biomarqueurs moléculaires sensibles devraient être développée afin d'alerter rapidement en cas d'exposition ou d'intoxication des populations humaines ou de l'environnement sous surveillance. Ceux-ci donneraient l'alerte très rapidement, et fourniraient des données sur la relation dose/effet face aux toxines et produits polluants.
5. Des moyens doivent être mis en œuvre pour fournir des méthodes d'analyse pointues afin de détecter le moindre taux de toxines présentes chez la population et dans l'environnement.
6. Les réglementations doivent s'appuyer sur ces nouveaux types de données, afin d'éviter les pièges de l'interprétation de résultats obtenus en laboratoire à partir d'espèces animales de substitution.
7. Une substance chimique qui serait identifiée comme persistant, bioaccumulatif ou toxique devrait être soumise à une surveillance stricte et efficace, voire interdit.
8. Les consommateurs et les entreprises devraient s'efforcer de moins se fier à des substances potentiellement toxiques.
9. Une précaution de principe doit être adoptée et dans le cas où il est prouvé qu'un produit est toxique, bioaccumulatif ou persistant, des décisions réglementaires doivent s'ensuivre sans délai. Par exemple, si un produit chimique s'accumule dans le lait humain ou traverse le placenta, il devrait être considéré comme dangereux pour le fœtus humain et conséquemment soumis à une surveillance.

[1] Ces modèles informatiques prévoient l'absorption, le métabolisme et l'élimination de chaque substance chimique par le corps humain ainsi que leur diffusion dans l'organisme, à partir de résultats in vitro et de paramètres physiologiques humains connus

Bibliographie

- Asgaharian, B et al (1995). Empirical modeling of particle disposition in the alveolar region of the lungs: a basis for interspecies extrapolation. *Fund. Appl. Toxicol.* 27:232-238.
- Bachmann, K et al (1996). Scaling basic toxicokinetic parameters from rat to man. *Env. Health Perspect.* 104:400-405.
- BUAV 2001, 'The Way Forward: Action to End Animal Toxicity Testing'.
- Cohen, AJ (1979). Critical review of the toxicology of coumarin with special reference to interspecies differences in metabolism and hepatotoxic response and their significance to man. *Food Cosmet. Toxicol.* 17:277-289.
- CSTE (2002). Opinion on the results of the risk assessment of bisphenol A - Human Health Part. Brussels, C2/AST/csteop/Bisph A HH22052002/D(02)
- CSTE (2003). Draft minutes of 38th plenary meeting held on 12 June 2003 in Brussels, item 7.
- Dahl, JE & Becher, R (1995). Acute toxicity of carbamide peroxide and a commercially available tooth-bleaching agent in rats. *J. Dental Res.* 74:710-714.
- Darnerud, PO (2003). Toxic effects of brominated flame retardants in man and wildlife. *Environ. Int.* 29:841-853.
- Darnerud, PO (2003). Toxic effects of brominated flame retardants in man and wildlife. *Environ. Int.* 29:841-853.
- DeSesso, JM et al (2000). Assessment of the carcinogenicity associated with oral exposures to hydrogen peroxide. *Food Chem. Toxicol.* 38:1021-1041.
- Diel P et al (2001). Morphological and molecular uterine and mammary gland reactions in different strains of the rat (Wistar, Sprague-Dawley, Da/Han). *Toxicologist* 60:296.
- Dorger, M et al (2002). Early inflammatory response to asbestos exposure in rat and hamster lungs: role of inducible nitric oxide synthase. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 181:93-105.
- Dorger, M et al (2002). Early inflammatory response to asbestos exposure in rat and hamster lungs: role of inducible nitric oxide synthase. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 181:93-105.
- EPA & ILSI Risk Science Institute (1993). Reproductive Effects of Disinfection Byproducts in Drinking Water.
- For further details see: BUAV (2001). The Way Forward: A non-animal testing strategy for chemicals. Publ. BUAV, London.
- Gad, SC (1990). Model selection in toxicology: Principles and practice. *J. Am. Coll. Toxicol.* 9:291-302.
- Garner, RC (1991). Genotoxicity testing. In: *Animals and Alternatives in Toxicology*. Ed: Balls, M et al. Macmillan Press, London.
- Hooper, K & McDonald, TA (2000). The PBDEs: An emerging environmental challenge and another reason for breast-milk monitoring programmes. *Environ. Health Perspect.* 108:387-392.
- Hooper, K & McDonald, TA (2000). The PBDEs: An emerging environmental challenge and another reason for breast-milk monitoring programs. *Environ. Health Perspect.* 108:387-392.
- Huuskonen, H et al (2003). Developmental toxicity evaluation of 3-chloro-4-(dichloromethyl)-5-hydroxy-2(5H)-furanone (MX) in Wistar rats. *Birth Defects Res. Part B Reprod. Toxicol.* 68:172-179.

- Kelleher, MGD & Roe, FJC (1999). The safety-in-use of 10% carbamide peroxide (Opalescence) for bleaching teeth under the supervision of a dentist. *B. Dental J.* 187:190-194.
- Kelleher, MGD & Roe, FJC (1999). The safety-in-use of 10% carbamide peroxide (Opalescence) for bleaching teeth under the supervision of a dentist. *Br. Dental J.* 187:190-194.
- Lake, BG (1999). Coumarin metabolism, toxicity and carcinogenicity: relevance for human risk assessment. *Food Chem. Toxicol.* 37:423-453.
- Mahmood, I & Balian, JD (1999). The pharmacokinetic principles behind scaling from preclinical results to phase I protocols. *Clin. Pharmacokinetics* 36:1-11.
- Mahmood, I & Balian, JD (1999). The pharmacokinetic principles behind scaling from preclinical results to phase I protocols. *Clin. Pharmacokinetics* 36:1-11.
- Meironyte, D et al (1999). Analysis of polybrominated biphenyl ethers in Swedish human milk. A time related trend study, 1972-1997. *J. Toxicol. Environ. Health* 58:329-341.
- Meironyte, D et al (1999). Analysis of polybrominated biphenyl ethers in Swedish human milk. A time related trend study, 1972-1997. *J. Toxicol. Environ. Health* 58:329-341.
- Muhle, H & Pott, F (2000). Asbestos as reference material for fibre-induced cancer. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 73(suppl.):S53-59
- Pennie, WD & Kimber, I (2001). Toxicogenomics; transcript profiling and potential application to chemical allergy. *Toxicol. in Vitro* 16:319-326.
- Proctor, NJ et al (2003). In vitro prediction of population in vivo drug clearance using updated scaling factors. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 55:445.
- Rahman, F et al (2001). Polybrominated diphenyl ether (PBDE) flame retardants. *Sci. Total Environ.* 275:1-17.
- Rahman, F et al (2001). Polybrominated diphenyl ether (PBDE) flame retardants. *Sci. Total Environ.* 275:1-17.
- Rodelsperger, K & Weitowitz, H-J (1995). Airborne fibre concentrations and lung burden compared to the tumour response in rats and humans exposed to asbestos. *Ann. Occup. Hyg.* 39:715-725.
- RPA & BRE Environment (2003). The impact of the new chemicals policy on health and the environment. A report prepared for the European Commission Environment Directorate-General, Section 4.
- Schonfelder, G et al (2001). Bisphenol A exposure during pregnancy. Second Status Seminar on Endocrine Disrupters, Germany.
- Scientific Committee on Food (2002). Opinion of the Scientific Committee on Food on Bisphenol A. SCF/CS/PM/3936 Final.
- Scientific Committee on Food (2002). Opinion of the Scientific Committee on Food on Bisphenol A. SCF/CS/PM/3936 Final. Publ. European Commission.
- Scientific Committee on Food (2002). Opinion of the Scientific Committee on Food on Bisphenol A. SCF/CS/PM/3936 Final. Publ. European Commission.
- Scientific Steering Committee's Working Group on Harmonisation of Risk Assessment Procedures (2000). First Report on the Harmonisation of Risk Assessment Procedures, Part 1. Publ. European Commission.
- Sim, M (2002). Case studies in the use of toxicological measures in epidemiological studies. *Toxicol.* 181-182:405-409.
- Steinberg, AD & DeSesso, JM (1993). Have animal data been used

inappropriately to estimate risks to humans from environmental trichloroethylene? Regul. Toxicol. Pharmacol. 18:137-153.

- The Royal Society (2000). Endocrine Disrupting Chemicals (EDCs), p6. Publ. The Royal Society, London.
- Timbrell, JA (1995). Introduction to Toxicology, 2nd edition. Taylor & Francis, London, p. 147.
- Triendl, R (2001). Genes may solve hormone-disrupter debate. Nature 409:274.
- Triendl, R (2001). Genes may solve hormone-disrupter debate. Nature 409:274.
- Tyl, RW et al (2002). Three-generation reproductive toxicity study of dietary bisphenol A in CD Sprague-Dawley rats. Toxicol. Sci. 68:121-146.
- US Department of Health & Human Sciences, Public Health Service Agency for Toxic Substances & Disease Registry (2001). Toxicological profile for asbestos. Section 3: Health Effects.
- US Department of Health & Human Sciences, Public Health Service Agency for Toxic Substances & Disease Registry (2001). Toxicological profile for asbestos. Section 3: Health Effects.
- Volkel, W et al (2002). Metabolism and kinetics of bisphenol A in humans at low doses following oral administration. Chem. Res. Toxicol. 15:1281-1287.
- Volkel, W et al (2002). Metabolism and kinetics of bisphenol A in humans at low doses following oral administration. Chem. Res. Toxicol. 15:1281-1287.
- Volkel, W et al (2002). Metabolism and kinetics of bisphenol a in humans at low doses following oral administration. Chem. Res. Toxicol. 15:1281-1287.

Coalition européenne pour mettre fin à l'expérimentation animale (ECEAE)

List des membres :

People for Animal Rights

(Allemagne)
Menschen für Tierrechte -
Bundesverband der
Tierversuchsgegner
e.V.
Roermonderstr. 4a
52072 Aachen, Allemagne
Tél : +49 - 241 - 157214
Fax : +49 - 241 - 155642
Courriel : info@tierrechte.de
Web : www.tierrechte.de

DeutscherTierschutzbund

(Allemagne)
DeutscherTierschutzbund
Baumschulallee 15
D-53115 Bonn, Allemagne
Tél : +49(228) 60 49 60
Fax : +49(228) 60 49 640
Courriel : bg@tierschutzbund.de
Web : www.tierschutzbund.de

Vier Pfoten (Autriche)

VIER-PFOTEN - Stiftung für Tierschutz
Sechshausenerstrasse 48
1150 WIEN, Autriche
Tél : 0043-1-895 02 02
Fax : 0043-1-895 02 02-99
Courriel : office@vier-pfoten.at
Web : www.vier-pfoten.at

GAIA (Belgique)

vzw GAIA asbl
90 Rue des Palais
Paleizenstraat 90
1030 Bruxelles, Belgique
Tél : + 32 (0)2 245 29 50
Fax : + 32 (0)2 215 09 43
Web : www.gaia.be

Forsøgsdyrenes Værn

(Danemark)
Øster Søgade 32
1357 Copenhagen K, Danemark
Tél : +(45) 33 32 00 16 (9:30-
14:30)
Fax : +(45) 33 32 81 12
Web : www.forsoegsdyrenes-vaern.dk

ADDA (Espagne)

ADDA
C/ Bailen 164, bajos
08037 Barcelona, España
Tél : 00 34 93 459 1601
Fax : 00 34 93 459 0265
Courriel : adda@addaong.org
Web : www.addaong.org

Animalia (Finlande)

Porvoonkatu 53
FIN-00520 Helsinki, Finlande
Tél : +358-(0)9-148 4866
Fax : +358-(0)9-148 4622
Courriel : animalia@animalia.fi
Web : www.animalia.fi

One Voice (France)

One Voice
23, rue du Chanoine Poupard
BP 91923
44319 NANTES cedex 3, France
Tél : 33 251 831 810
Fax : 33 251 831 818
Courriel : info@onevoice-ear.org
Web : www.onevoice-ear.org

Irish Anti-Vivisection Society

(Irlande)
Tél : 00353 1 282 054
Courriel : info@irishantivivisection.org
Web : www.irishantivivisection.org

LAV (Italie)

Lega Anti Vivisezione (LAV)
Via Sommacampagna, 29, 00185
Rome,
Italie
Tél : 00 39 06 446 1325
Fax : 00 39 06 4461326
Web : www.infolav.org

Stichting EDEV (Pays Bas)

Een Dier Een Vriend
Postbus 93029
2509 AA Den Haag, Les Pays Bas
Tél : 070 383 36 99
Fax : 070 381 92 55
Courriel : info@edev.nl
Web : <http://www.edev.nl/>

Animal (Portugal)

Rua Ferreira Borges, n.º 64 - 3.º
4050 Porto
Portugal
Tél : + 351 - 222 038 640
Fax : + 351 - 222 038 639
Courriel : info@animal.org.pt
Web : www.animal.org.pt

BUAV (RU)

British Union for the Abolition of
Vivisection (BUAV)
16a Crane Grove
Londres N7 8NN, Royaume Uni
Tél : +44 (0)20 7700 4888
Fax : +44 (0)20 7700 0252
Courriel : info@buav.org
Web : www.buav.org

Animal Rights Sweden

(Suède)
Förbundet djurens rätt
Box 2005,
125 02 Älvsjö , Suède
Tél : 08 - 555 914 00
Fax : 08 - 555 914 50
E-post: info@djurensratt.se
Web : www.djurensratt.org

AGSTG (Suisse)

Sölzer-Möösli 298
CH - 9107 Urnäsch AR
Switzerland
Tél : +41 - (0)71 - 364 25 67
Fax : +41 - (0)71 - 364 27 68
Courriel : office@agstg.ch
Web : <http://www.agstg.ch>

