



## **Bref'OPAL n°7 - Septembre 2016- La rédaction de la demande d'autorisation de projet « DAP »**

*Chers Amis de l'OPAL,*

*Nous avons le grand plaisir de vous proposer ce septième numéro de notre lettre électronique, Bref'OPAL. Ce numéro est consacré à la rédaction de la demande d'autorisation de projet, après quelques années d'exercice, qui ont permis à tous de prendre un peu de recul et d'expérience.*

*Dans le cadre, résumé précédemment dans le précédent Bref'OPAL 6, de cette fameuse autorisation (autorisation de projet utilisant des animaux à des fins scientifiques) APAFIS, regardons maintenant quels sont les principes qui permettent une évaluation éthique la plus simple possible, tout en étant conforme d'un point de vue réglementaire aux attentes du Comité d'Éthique en Expérimentation Animale (CEEA) et du Ministère de l'Éducation Nationale, de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche (MENESR). Le but n'est pas de reprendre la Notice, ni les bulles d'aide de l'application, mais bien d'essayer d'aider les déposants en listant ce qui est concrètement requis ainsi que les oublis, erreurs ou mécompréhensions les plus courantes lors de la préparation de ce formulaire électronique de demande.*

*La première chose à prendre en compte est que tous les paragraphes de la demande d'autorisation de projet sont motivés par les textes réglementaires. Il est donc clair que certains comités d'éthique peuvent souhaiter obtenir plus d'informations que celles qui sont demandées dans le formulaire. Néanmoins, dans son rôle officiel pour l'autorisation de projet, celui-ci n'est pas critiquable puisqu'aucun texte réglementaire ne peut lui être opposé : il reprend tout ce qui est exigé par ces textes.*

*Nombre de déposants remplissent les différentes parties avec des informations redondantes, ou en oubliant certaines qui sont importantes, par méconnaissance des textes de transposition de la Directive 2010/63. Nous allons tenter de poser un socle commun d'aide à l'utilisation du formulaire dans le but de faciliter le travail des rédacteurs de demandes d'autorisation de projet, du CEEA et des autorités de contrôle.*

*Par ailleurs, dans l'esprit de la Directive, et de la nouvelle réglementation, il s'agit de pouvoir avaliser ou pas un ratio bénéfique / risque en fonction des éléments fournis dans la demande (pour aller plus loin voir la référence 1). Il est donc indispensable que cette demande contienne les informations permettant ce jugement. Nombre de déposants pensent que le comité d'éthique ne va évaluer que la partie « risques, contraintes, douleur » pour l'animal, sans mettre en regard la partie bénéfique pour la société. C'est l'erreur principale de laquelle découlent les écueils les plus problématiques. La nécessaire évaluation de la partie bénéfique attendu du projet exige d'avoir des informations sur la question posée et l'apport potentiel des résultats pour la société. Ceci est primordial, et le corollaire*

*de ceci est que toute procédure expérimentale (brique concrète du projet) doit être évaluée au regard du bénéfice attendu. Des procédures expérimentales génériques, si elles sont tout à fait légitimes d'un point de vue descriptif et opérationnel en tant que procédures opératoires standards (« SOPs »), n'induiront pas le même jugement en fonction du contexte dans lequel elles sont prévues. Il n'est donc pas possible de faire valider une « SOP » générique par le comité d'éthique, puis de le décliner sans aucun jugement dans divers projets ayant des finalités très différentes. Dans chaque cas, en effet, le formulaire insiste d'ailleurs sur la pertinence et la justification (et pas uniquement sur le mode opératoire, qui demeure bien sûr primordial, mais qui ne suffit pas).*

*\**

*\*\**

*Le résumé non technique est une partie importante, destinée au grand public, et obligatoirement mise à sa disposition de manière anonyme. Il sera publié par le ministère dans le cas des projets autorisés dans le but d'informer la société. Il doit expliquer avec des mots simples, facilement compréhensibles donc non techniques la question posée dans le projet. Il doit permettre de convaincre la personne non spécialisée dans les questions relatives à l'utilisation des animaux à des fins scientifiques du CEEA que l'équilibre bénéfice/ risque (bénéfice attendu par la société / contraintes pour les animaux) est en faveur de la réalisation du projet. Au-delà, il doit permettre de convaincre les membres de la société civile et le grand public, de l'intérêt du projet, et de sa légitimité (bénéfices attendus, modalités de réalisation). Il doit donc aussi détailler les mesures concrètes prises dans ce projet particulier pour mettre en œuvre la règle des 3R. A ce titre, il est possible de reproduire (intégralement ou de manière synthétique), le contenu du paragraphe 3.4.1 au titre du remplacement. Pour la réduction, les informations devraient être extraites du paragraphe 3.3.5, et aussi du 3.4.10. Pour le raffinement, la stratégie générale doit se retrouver dans le 3.3.5 et détaillée dans les procédures expérimentales (paragraphe dédiés, en § 4.2, cf infra). Ces informations doivent donc être reprises dans le paragraphe 2 (RNT). On voit donc d'emblée, qu'à l'instar du résumé d'une publication scientifique, il n'est pas possible de rédiger le paragraphe 2 avant d'avoir terminé la rédaction du projet, et qu'il n'est pas possible que le paragraphe 2 soit une copie ou un simple résumé simplifié du paragraphe 3.3.2 (résumé scientifique). En effet, il n'a ni le même but, ni le même public.*

*Dans la partie 3.1, qui est administrative, peu de choses à dire, si ce n'est que le responsable de la mise en œuvre générale du projet dans l'Établissement Utilisateur (EU) et de sa conformité à l'autorisation (responsable MOE) est identifié et sera un interlocuteur privilégié des autorités, du comité d'éthique comme du ministère, de même que le responsable de l'établissement utilisateur qui est de facto responsable de tous les projets qui s'y déroulent. Autre élément parfois méconnu : le responsable du bien-être animal est une personne nommée par le responsable de l'établissement, et ce n'est donc pas le déposant ou quelqu'un de son équipe (sauf cas très particulier). La majorité de cette partie 3.1 est dépendante de l'établissement et ne change pas (ou rarement) d'un projet à l'autre dans un établissement donné (mis à part le responsable de la mise en œuvre du projet et de sa conformité à l'autorisation).*

*La partie 3.2 permet de documenter que d'un point de vue légal, toutes les compétences requises pour la mise en œuvre d'un tel projet seront effectivement réunies (mais pas nommément) : ceci est réglementairement indispensable (auparavant, plusieurs comités vérifiaient les personnes exactes prévues pour mettre en œuvre le projet avec leurs compétences : ces responsabilités sont maintenant bien définies et ont été transférées au responsable des formations et compétences de l'établissement, lui aussi officiellement nommé).*

Traisons des points concernant les projets.

*Pour la partie justification légale, éducative ou scientifique du projet (§ 3.3.1), les modalités de réalisation sont détaillées dans la Notice. Néanmoins, nous pensons utile d'insister sur un point important. Dans tous les cas, les mentions portées doivent être précises et conformes à ce qui est attendu. En effet, dans le cas contraire, le CEEA se verra obligé de faire, en plus de l'évaluation éthique, une évaluation scientifique de la question posée. Il est toujours assez complexe de faire la « frontière » entre une évaluation éthique pure et une évaluation scientifique. Dans tous les cas, si la justification scientifique portée au §3.3.1 n'est pas suffisamment documentée pour être convaincante, les déposants s'exposent à un avis défavorable (l'équilibre bénéfice pour la société / contrainte pour l'animal devient trop peu documenté et donc défavorable à la mise en œuvre du projet, si la question scientifique elle-même n'est pas inattaquable). N'oublions pas que toute utilisation d'animal de laboratoire est interdite si elle n'est pas indispensable pour atteindre un objectif donné. Ce point 3.3.1 va de pair avec le point 3.3.2.*

*Le paragraphe de résumé scientifique (§3.3.2) doit expliciter de façon aisément compréhensible par des scientifiques la question posée par le projet dans son contexte synthétique (état de l'art), ainsi que les modalités choisies pour tenter de répondre à cette question. Ici donc doivent être montrés le contexte documenté (sans redondance) dans le cadre de ce projet et de la question scientifique qu'il propose d'aborder et doivent être démontrées l'importance et la logique des différentes procédures expérimentales constitutives du projet (sans les détails techniques, mais de façon à permettre de comprendre pourquoi mettre en œuvre ces procédures expérimentales et comment elles seront réalisées et enchaînées éventuellement). Encore une fois, il est clair que cette partie n'a que peu de rapport avec l'exercice demandé au paragraphe 2, qui est lui à destination du grand public et qui doit comprendre toute une partie sur la mise en œuvre des 3R. Dans les faits, après la lecture de ce résumé (§3.3.2), les évaluateurs doivent avoir les informations pour établir le ratio bénéfice / risque (en être convaincus) et être prêts pour juger la stratégie de réduction et de raffinement (§3.3.5), ainsi que les modalités pratiques de réalisation (procédure expérimentale). Il restera aussi à démontrer le caractère indispensable et incontournable du recours à l'animal vivant (ce qui doit être fait au § 3.4.1).*

*Concernant la partie 3.3.3, sur la ou les méthode(s) de mise à mort prévue(s), il est important de prendre en compte l'Annexe IV de l'arrêté (Arrêté du 1er février 2013 fixant les conditions d'agrément, d'aménagement et de fonctionnement des établissements utilisateurs, éleveurs ou fournisseurs d'animaux utilisés à des fins scientifiques et leurs contrôles). Si une méthode interdite pour l'espèce prévue doit être utilisée, il est nécessaire de faire une demande de dérogation justifiée scientifiquement, au moyen du paragraphe 3.3.4 (les détails de réalisation doivent être indiqués dans la ou les procédure(s) expérimentale(s) correspondante). Sur des animaux inconscients (et qui ne reprendront pas conscience : profondément endormis), il est aussi possible d'utiliser d'autres méthodes. Il est logique dans ce cas de justifier l'utilisation de ces autres méthodes dans la DAP, et par le même coup, de demander l'avis du CEEA. L'exsanguination, par exemple, est considérée dans l'Arrêté comme une méthode de confirmation de la mise à mort. D'un autre côté, l'exsanguination peut être requise pour la perfusion intracardiaque à l'aide d'un fixateur, et si elle est indispensable, il est plus éthique de la considérer comme une procédure expérimentale sans réveil plutôt que de tenter de l'inclure dans les méthodes de mise à mort. Précisons aussi, que pour certains projets, dépendamment du déroulé du projet, il peut arriver que cette partie n'ait pas à être remplie. Autre*

point, pour les fœtus ou les nouveau-nés de rongeurs, la méthode souvent utilisée est la décapitation. Celle-ci n'est autorisable que si d'autres méthodes ne peuvent être utilisées et il faut par conséquent donner les informations nécessaires au comité d'éthique.

Le paragraphe 3.3.5 est un des plus problématiques des DAPs, en général. Une grande majorité de déposants ne comprennent pas ou peu ce qui est attendu. Néanmoins, ce paragraphe est essentiel car il va permettre de documenter les stratégies générales concernant la réduction et le raffinement. En effet, il est demandé l'approche statistique pour réduire au minimum le nombre d'animaux (repose en général sur des calculs de puissance), et aussi pour réduire la douleur, la souffrance et l'angoisse (une partie du raffinement). A la fin, il est demandé également les tests statistiques prévus : ceci s'applique logiquement aux tests prévus pour analyser les résultats. C'est un point auquel il est possible d'expliquer une stratégie générale d'analyse finale (et donc pas uniquement les méthodes de calcul du nombre d'animaux), et idéalement, d'analyse longitudinale (plus puissante et qui contribuera à la réduction et au raffinement à travers l'optimisation de l'utilisation de chaque animal). Il faut aussi faire très attention aux analyses en cours de déroulement, qui ne peuvent se faire en statistiques paramétriques classiques qu'à certaines conditions bien définies et peu maîtrisées par la grande majorité des biologistes. Attention aussi à l'analyse des duplicatas ou des triplicatas : de nombreuses erreurs sont faites à ce niveau. Accessoirement, ce paragraphe va aussi permettre de rédiger une bonne partie du résumé non technique (§2). En ce qui concerne le raffinement, il est question des mesures de raffinement à appliquer pour le projet présenté. Il ne faut pas indiquer ici les mesures de raffinement au cours de l'hébergement, de type enrichissement standard, car elles sont relèvent d'une autre autorisation : l'agrément de l'établissement par la Direction Départementale de la Protection des Populations, dont tous les animaux (expérimentaux ou non) bénéficient dans l'animalerie. Il ne faut pas non plus oublier ici les stratégies d'optimisation de l'utilisation de chaque animal, qui sont des formes de raffinement souvent méconnues ou oubliées, et qui sont souvent aussi susceptibles de contribuer à la réduction. Ceci inclut les analyses et recueil de données longitudinaux, un des meilleurs exemples est l'imagerie non ou peu invasive, in vivo, sous anesthésie, à des temps réguliers (l'animal imagé est son propre témoin : réduction et raffinement sont au rendez-vous).

\*

\*\*

Abordons maintenant les points concernant plus précisément les animaux.

La partie §3.4.1 est primordiale car elle permet de déterminer le caractère légal ou pas de l'utilisation d'animaux de laboratoire vivants pour la mise en œuvre du projet examiné (pour obtenir la réponse à la question posée par ce projet). Il faut documenter d'une façon claire et synthétique le fait que le recours à l'animal est incontournable (et pas simplement qu'il serait intéressant ou d'un apport documentaire important). A défaut, le recours à l'utilisation d'animaux serait de facto illégal, et l'avis ne pourrait être que défavorable.

La justification de l'espèce (§3.4.3), et donc du choix du modèle doit aussi être faite soigneusement. Il est souvent établi qu'il est possible pour plusieurs questions d'utiliser (par exemple pour « screener » diverses stratégies ou des panels de molécules), des espèces moins sensibles (telles que la drosophile à titre de simple exemple). Le comité doit donc avoir la conviction que ceci n'est pas possible.

Les questions §3.4.4 à §3.4.7 visent aussi des catégories particulières d'animaux pris en compte différemment dans la réglementation. Il est donc important de les remplir avec soin, mais ce sont des paragraphes simples à renseigner, et qui concernent une minorité de déposants.

Les paragraphes 3.4.8 et 3.4.9 reposent sur l'obligation d'utiliser, pour des espèces particulières listées dans l'arrêté correspondant, des animaux provenant de fournisseurs (au sens large) professionnels dédiés (établissements éleveurs ou fournisseurs). Il demeure possible d'obtenir des animaux élevés sur place (« Votre établissement fournit-il tout ou partie des animaux du projet ? »), ou de collaborateurs (« un autre établissement utilisateur »), les différentes possibilités pouvant être combinées. Le paragraphe 3.4.8 comporte aussi, dès que l'on coche la case « Animaux génétiquement altérés », un ensemble de sous-questions qui ont aussi un support réglementaire. En effet, dans ce cas, il peut s'agir d'un mutant naturel (ayant été isolé suite à l'apparition naturelle d'une mutation dans la population), ou bien d'un organisme artificiellement génétiquement modifié. Dans les deux cas, il est nécessaire de déterminer a priori le caractère dommageable ou pas du phénotype des animaux. En effet, si des animaux ont un phénotype dommageable, leur existence entière est réglementairement une procédure expérimentale, qui doit, à ce titre, être décrite et autorisée dans un projet pour être légale, l'existence de ces animaux étant elle-même une contrainte expérimentale pour eux (ceci concerne précisément les individus ayant eux-mêmes le phénotype dommageable). Parfois, l'on se pose la question de savoir si des modèles d'animaux génétiquement altérés (Nude, SCID, etc.) sont des modèles qui présentent un phénotype dommageable. Il faut examiner s'il y a une altération du comportement normal de l'espèce. Si le comportement est normal et si aucune mesure de raffinement particulière au cours de l'hébergement de ces modèles ne doit être ajoutée en plus celles des mesures de raffinement et/ou enrichissement prévues dans le cadre de l'agrément général de l'animalerie, alors le phénotype n'est pas dommageable. Si le comportement est anormal, il faudra envisager des mesures de raffinement spécifiques pour soulager la contrainte liée à l'expression du phénotype dommageable... et dédier une procédure expérimentale à cela dans le dossier, ne serait-ce que pour pouvoir expliquer ces mesures de raffinement particulières. Notons que le caractère dommageable est aussi à juger au regard des conditions exactes de vie de ces animaux dans l'établissement (un avis de la structure du bien-être et du vétérinaire référent est donc indiqué pour cette détermination).

Le paragraphe 3.4.10 nous demande d'indiquer aussi une information qui doit être reportée dans le RNT (§2) : le nombre total d'animaux du projet. Ce nombre résulte de la stratégie de réduction (§3.3.5) et forcément des justifications qui sont données dans chaque procédure expérimentale. Il est donc recommandé de le renseigner après avoir terminé la définition de toutes les procédures expérimentales. Le paragraphe de justification à ce niveau doit permettre au comité d'éthique de recalculer précisément, pour chaque procédure expérimentale et pour chaque expérience, le nombre d'animaux utilisés. Il est tout à fait possible et logique de référer aux procédures expérimentales qui comportent aussi des paragraphes de justification des nombres. Notons ici qu'il est possible de donner des schémas et tableaux en tant qu'annexes pour clarifier ce paragraphe (et d'autres), mais n'oublions pas que la demande doit se suffire à elle-même. Ces documents ne doivent donc pas contenir d'informations essentielles qui ne seraient pas dans la DAP elle-même.

Le paragraphe 3.4.11 est aussi relié à une considération réglementaire, certains stades de développement étant traités différemment dans la réglementation. Celui-ci doit donc être décrit et précisé en donnant les raisons scientifiques d'utilisation de ces stades spécifiques.

Le sexe (§3.4.12) doit aussi être indiqué et justifié. Si les deux sexes peuvent être utilisés et que le sexe est indifférent, ceci doit être simplement expliqué.

Le paragraphe 3.4.13 est bien entendu très important. En effet, il permet de décrire au minimum des points d'arrêts, déterminés a priori, qui permettront de mettre fin de façon suffisamment précoce à la souffrance des animaux. Ces points doivent être des points précis, quantifiables et objectifs, et

doivent pouvoir être déterminés par toute personne compétente. En effet, ils doivent être à la disposition de la structure du bien-être et du personnel en charge des soins aux animaux. Il n'est donc pas possible de mettre des formules évasives, floues, comme on en voit encore trop souvent. Dépendamment des procédures expérimentales, il peut être pratique et indiqué de mettre en place un système de « scoring » qui permettra de déterminer l'atteinte précise d'un seuil d'arrêt. Les mesures de type point limite « précoce » induisant la mise en place de surveillance ou d'observation spécifique sont plutôt à indiquer dans la procédure expérimentale concernée dans le paragraphe prévu (cf infra). Une information primordiale, qui est souvent oubliée est aussi la périodicité de recueil des paramètres de détermination des points limites (souvent oubliée, ou bien, régulièrement, on constate des propositions de recueil à des périodicités trop espacées).

\*

\*\*

Enfin, terminons par les procédures expérimentales.

La description des procédures expérimentales doit indiquer tout d'abord la finalité des procédures expérimentales (les modalités sont très clairement indiquées dans la Notice et les bulles d'aide). Par la suite, les procédures expérimentales sont décrites individuellement.

Le principe général est que le comité d'éthique doit pouvoir savoir ce que chaque animal (ou chaque lot d'animaux) subira ou pourra subir comme contrainte, contrainte étant ici pris au sens de douleur, souffrance, angoisse ou dommage durable équivalents ou supérieurs à ceux causés par la fameuse piqûre d'aiguille. Le responsable MOE doit se demander si les actes expérimentaux qu'il envisage pour son projet sur les animaux vivants entraîneront une contrainte pour les animaux.

Toutes les opérations au seuil réglementaire (cf Bref'OPAL 6) ou au-dessus doivent :

- être décrites avec suffisamment de détail ;
- être faites sous anesthésie (sauf demande de dérogation comportant une justification scientifique dans le paragraphe prévu à cet effet (« Indiquez le cas échéant les raisons scientifiques justifiant une dérogation à l'anesthésie des animaux ») ;
- être mises en œuvre sur des animaux bénéficiant d'un environnement enrichi (sauf demande de dérogation comportant une justification scientifique dans le paragraphe prévu à cet effet (« Indiquez le cas échéant les raisons scientifiques justifiant une demande de dérogation aux conditions d'hébergement des animaux »).

Par la suite, les lots et les nombres d'animaux par lots doivent être clairement explicités et justifiés (et la synthèse de cette information doit logiquement alimenter le §3.4.10, dans la partie justification).

En ce qui concerne la structuration du dossier de demande d'autorisation projet et dans la mesure où :

- le comité doit pouvoir savoir ce que chaque animal pourra subir,
- il doit aussi pouvoir établir le ratio bénéfice / risque dans le contexte de la ou des question(s) posée(s) par le projet,

il est en général beaucoup plus simple (et c'est ce qui est prévu dans le formulaire) qu'une procédure expérimentale décrive des lots d'animaux jusqu'à la fin des expériences (et donc assez souvent jusqu'à la mise à mort). Dans le cas où des animaux doivent passer dans des procédures expérimentales

*successives, il faut préciser lesquels, indiquer qui prendra la décision (« Précisez si la décision a été prise par le vétérinaire ou toute autre personne compétente désignée par le responsable du projet »).*

*Un paragraphe concerne les prélèvements (fréquence, volume) : il s'agit des prélèvements in vivo, pour lesquels le modus operandi doit être détaillé. Il n'est pas requis de détailler les prélèvements post-mortem, car la procédure expérimentale ne concerne que les animaux vivants (ces informations peuvent néanmoins être données au titre de l'optimisation au niveau §3.3.2).*

*Le paragraphe suivant va permettre de détailler les méthodes pour réduire la douleur, la souffrance et l'angoisse, en détail, dans cette procédure expérimentale : ne pas faire de répétition avec le paragraphe concernant la pertinence et la description de la procédure expérimentale, puisque ces modalités sont prévues ici. Il manque souvent ici le raffinement des conditions d'hébergement, d'élevage et de soins, comme par exemple des mesures complémentaires de soin, d'alimentation adaptée, de surveillance particulière, ceci est primordial et souvent manquant.*

*Le paragraphe concernant les mesures de réduction de toute forme de souffrance de la naissance à la mort concerne plutôt des mesures plus génériques non forcément liées à cette procédure expérimentale particulière, mais qui sont mises en place localement, pour le projet.*

*En toute logique, le paragraphe « Dispositions prises pour éviter tout double emploi injustifié des procédures expérimentales, le cas échéant » doit être rempli. Il fait appel aux mesures prises pour vérifier que ces questions n'ont pas déjà été adressées ailleurs (il faut donc considérer cette question et apporter quelques éléments), et aussi aux éléments de garantie de non-redondance à l'intérieur même du projet. Le comité ne manquera de rappeler le demandeur à l'ordre si ce paragraphe n'est pas rempli.*

*\**

*\*\**

*Nous espérons que ce Bref'OPAL vous sera utile personnellement et peut être également pour toute personne déposant des projets pour autorisation. Le prochain numéro sera certainement consacré aux rôles de chacun dans ce processus d'autorisation de projet.*

*Le CA de l'OPAL vous souhaite une excellente rentrée, la réussite de vos travaux en cours, et vous donne rendez-vous pour notre prochaine lettre électronique.*

Référence 1 : Numéro spécial Laboratory Animals Juin 2016 :

[http://lan.sagepub.com/content/50/1\\_suppl/1.full](http://lan.sagepub.com/content/50/1_suppl/1.full)

[http://lan.sagepub.com/content/50/1\\_suppl/21.full](http://lan.sagepub.com/content/50/1_suppl/21.full)