



*Comité de rédaction* : J.P. Clot, E. Huguet, J.P. Rebière

*Coordination* : I. Brasier

RECHERCHE EXPÉRIMENTALE ET PROTECTION DE L'ANIMAL DE LABORATOIRE  
28, rue Saint-Dominique, 75007 Paris • Tél. : 01 47 53 09 12  
Fax : 01 47 53 73 76 • Adresse électronique : [OPALassociation@aol.com](mailto:OPALassociation@aol.com)

**SPÉCIAL COLLOQUE OPAL**

**REACH : QUELLES STRATEGIES POUR LIMITER  
LE RECOURS A L'EXPERIMENTATION ANIMALE ?**

**12 décembre 2006**

*Le colloque « REACH : Quelles stratégies pour limiter le recours à l'expérimentation animale ? » organisé par l'OPAL en collaboration avec le département de formation continue de la Faculté de Paris 5, s'est déroulé le 12 décembre 2006, en présence de Son Altesse Royale, le Prince Laurent de Belgique dont la Fondation a des objectifs proches de ceux de l'OPAL, pour promouvoir des méthodes alternatives à l'expérimentation animale.*

*Le colloque, qui a rassemblé 80 participants, s'est tenu dans la Salle des Actes de la Faculté de Pharmacie de l'Université Paris 5 mise gracieu-*

*sement à la disposition de l'OPAL par le Doyen Dominique Durand également administrateur de l'OPAL.*

*Cette journée avait pour objectifs de présenter les enjeux de la réglementation REACH (enRegistrement, Evaluation et Autorisation des substances CHimiques) et sa mise en application quant à l'expérimentation animale et la place des méthodes substitutives à l'utilisation de l'animal. Il est d'ailleurs à remarquer que le Parlement européen adoptait, le jour même du colloque le règlement REACH dont l'application devra intervenir au cours de l'année 2007. ■*

**Sommaire**

*Les présentations des intervenants étaient organisées en deux parties :*

**1<sup>ère</sup> partie : Le règlement REACH**

1. La démarche européenne à l'origine de REACH et les finalités de cette réglementation .....2
2. Les aspects réglementaires .....5
3. Le point de vue de l'industrie : cas de l'industrie des produits aromatiques .....8

**2<sup>e</sup> partie : REACH et l'expérimentation animale**

4. Les aspects pratiques de l'application de la réglementation REACH dans l'industrie ..... 12
5. Les plans d'évaluation et les stratégies à mettre en œuvre .....19
6. Plate-forme nationale pour le développement des méthodes alternatives à l'expérimentation animale .....23
7. REACH et l'évaluation des xénobiotiques : défis scientifique, épistémologique et éthique .....25
8. Table ronde .....26

# 1

## La démarche européenne à l'origine de REACH et les finalités de cette réglementation

*Xavier Capilla*

*Ministère de l'Ecologie et du Développement Durable,  
Direction de la Prévention des Pollutions et des Risques*

On estime à environ 100 000 le nombre des substances chimiques présentes sur le marché européen, dont 30 000 à plus d'une tonne par an et le manque de connaissances sur leurs effets sur la santé et l'environnement est une source d'incertitude et par conséquent, de grande préoccupation. En effet, la responsabilité globale des produits chimiques dans les atteintes à l'environnement et à la santé est de plus en plus suspectée.

Il faut remonter au Sommet de la Terre à Rio en 1992 pour que le programme Agenda 21 annonce six actions prioritaires dans le domaine des produits chimiques. Ces ambitions sont renouvelées à Johannesburg en 2002 prévoyant :

- En 2020, les produits chimiques doivent être utilisés et produits de manière à ce que leurs effets néfastes soient réduits au minimum ;
- En 2008, le système global harmonisé de classification et d'étiquetage des substances dangereuses doit être opérationnel.

La réglementation actuelle, essentiellement d'origine européenne, se fonde sur trois textes majeurs :

- Directive 67/548/CEE du Conseil du 27 juin 1967 concernant le rapprochement des dispositions législatives, réglementaires et administratives relatives à la classification, l'emballage et l'étiquetage des substances dangereuses
- Directive 76/769/CEE du Conseil du 27 juillet 1976 concernant le rapprochement des dispositions législatives, réglementaires et administratives relatives à la limitation de la mise sur le marché et de l'emploi de certaines substances et préparations dangereuses
- Règlement 793/93/CEE du 23 mars 1993 concernant l'évaluation et le contrôle des risques présentés par les substances existantes

Le dispositif actuel d'évaluation et de gestion des risques liés aux substances chimiques se fonde sur une différence entre substances dites nouvelles et substances existantes. Les substances nouvelles font l'objet d'une procédure de notification, préalablement à leur mise sur le marché communautaire. Le cadre pour les substances existantes a été mis en place grâce au règlement 793/93/CEE.

Des listes prioritaires de substances ont été réalisées, pour lesquelles une évaluation des risques

approfondie devait être menée par les autorités compétentes nationales.

Malgré ces dispositifs réglementaires, de nombreuses lacunes demeurent :

- peu ou pas d'informations sur les propriétés de la plupart des 100 000 substances présentes sur le marché communautaire,
- différence de régime applicable aux substances existantes et aux substances nouvelles,
- évaluation du risque à la charge des autorités publiques,
- lenteur dans le programme d'évaluation des substances existantes,
- outils limités pour la gestion des risques des substances,
- problèmes d'information sur la maîtrise des risques au long des chaînes d'approvisionnement,
- problèmes d'harmonisation entre les Etats membres.

En février 2001, la Commission européenne a présenté un Livre Blanc intitulé : « Stratégie pour la future politique dans le domaine des produits chimiques ».

Le projet initial a été modifié après l'organisation d'une consultation par internet (mai 2003) pour aboutir à la proposition de règlement du 29 octobre 2003.

Après que le Parlement européen ait terminé la première lecture du projet de règlement, le 17 novembre 2005, le Conseil Compétitivité est parvenu, lors de sa session extraordinaire du 13 décembre 2005, à un accord politique. La position commune, adoptée lors du Conseil Environnement du 27 juin 2006, est soumise au vote du Parlement en séance plénière le 12 décembre 2006. Le règlement entrera en vigueur au premier semestre 2007. S'agissant d'un règlement, il est d'application directe.

Le dispositif mis en place par REACH comporte quatre étapes principales : enregistrement, Evaluation, Autorisation des substances CHimiques ainsi qu'une procédure de restriction. Ce dispositif modifie les principes de base de la réglementation chimique, tant en charge de la preuve, que de la distinction entre substances nouvelles et substances existantes.

En effet, l'article 1 § 3 précise : « *Le présent règlement est fondé sur le principe qu'il incombe aux fabricants, importateurs et utilisateurs en aval de veiller à fabriquer, mettre sur le marché ou utiliser des substances qui n'ont pas d'effets nocifs pour la santé humaine ou l'environnement. Ses dispositions reposent sur le principe de précaution* ».

On peut relever quelques éléments jugés essentiels de REACH :

- Les producteurs et importateurs sont tenus :
  - d'apporter la preuve que les risques des substances produites ou importées > 1t/an par fabricant ou importateur (environ 30 000 substances) sont valablement maîtrisés ;
  - d'informer l'ensemble de la chaîne en aval.
- Substances nouvelles et substances existantes sont intégrées dans un même système.
- Les Autorités compétentes n'ont plus la charge de l'ensemble des évaluations des risques (renversement de la charge de la preuve).
- Création d'une procédure d'autorisation.
- Création d'une Agence européenne en charge du dispositif.

#### Le système REACH prévoit :

- L'enregistrement de toutes substances produites ou importées à plus d'une tonne par an dans un délai de 11 ans auprès de l'agence européenne des produits chimiques ;
- L'évaluation qui permet aux autorités de vérifier que l'industrie respecte ses obligations et évite les essais inutiles ;
- L'autorisation obligatoire pour les substances extrêmement préoccupantes ;
- Les restrictions permettant de gérer les risques qui ne sont pas couverts de manière adéquate par les autres dispositions du système.

#### a) L'enregistrement

Principe de l'enregistrement : « *obligation faite aux fabricants et aux importateurs de substances d'acquies (...) des connaissances sur les substances qu'ils fabriquent ou importent, et d'exploiter ces connaissances pour assurer la gestion responsable et bien informée des risques que les substances peuvent présenter* ».

Les annexes VI à X présentent les exigences d'information liées au tonnage et à certaines caractéristiques de danger.

Cet enregistrement s'applique aux substances existantes mises sur le marché avant septembre 1981, produites ou importées > à 1 t/an, les substances dans les préparations (sous certaines conditions) et selon un échéancier spécifique en fonction du tonnage au plus tard dans 11 ans.

#### b) L'évaluation

Deux types d'évaluation, à charge des Etats membres et de l'Agence, sont prévues :

- évaluation des dossiers menée par l'Agence : elle vise à juger du caractère complet d'un dossier, en particulier en ce qui concerne les informations sur les propriétés intrinsèques des substances ;
- évaluation des substances menée, sur une base volontaire, par les Etats membres : elle vise à lever ou confirmer une suspicion sur les substances existantes.

#### c) L'autorisation

L'autorisation a pour but de : « *garantir que les risques résultant des substances extrêmement préoccupantes soient valablement maîtrisés ou que ces substances soient remplacées par d'autres substances et technologies appropriées* ».

Cette autorisation concerne les substances :

- cancérogènes, mutagènes ou toxiques pour la reproduction (CMR) de catégorie 1 et 2 ;
- persistantes, bioaccumulables et toxiques (PBT) ou très persistantes et très bioaccumulables (vPvB) ;
- possédant des propriétés perturbant le système endocrinien ou pour lesquelles il est scientifiquement prouvé qu'elles peuvent avoir des effets graves sur la santé humaine et l'environnement.

L'autorisation comporte deux étapes :

- inscription des substances éligibles à l'annexe XIV du règlement,
- octroi d'autorisation pour certains usages au cas par cas et sur demande du fabricant ou de l'importateur.

#### d) Les restrictions

La procédure de restriction permet aux Etats membres ou à la Commission, dès lors qu'ils estiment que la mise sur le marché ou l'utilisation d'une substance entraîne un risque qui n'est pas valablement maîtrisé et qui mérite une action au niveau communautaire, de préparer un dossier en vue d'inscrire cette substance à l'annexe XVII du règlement.

L'annexe XVII précise exactement quelles sont les restrictions qui pèsent sur la substance. Elle reprend les différentes dispositions de la directive 76/769/CEE relative aux restrictions d'usage imposées à certaines substances chimiques.

Pour la mise en place et le bon fonctionnement de REACH, il est prévu de développer des guides techniques et outils, en particulier informatiques (RIPs).

Ils sont l'objet de concertation entre le Bureau européen des produits chimiques (ECB), des Etats membres, de l'industrie et d'organisations non gouvernementales.

- RIP 1 : Description des procédures REACH
- RIP 2 : Système informatique de gestion des différentes procédures de REACH

- RIP 3 : Documents guides pour l'industrie
- RIP 4 : Documents guides pour les autorités compétentes
- RIP 5 : Mise en place d'une pré-agence
- RIP 6 : Mise en place de l'Agence européenne des produits chimiques
- RIP 7 : Préparation de la Commission à ses futures missions concernant REACH

Le calendrier de mise en œuvre du dispositif est ainsi établi :

- **1<sup>er</sup> juin 2007** : entrée en vigueur du règlement (sauf dispositions particulières)

- **1<sup>er</sup> semestre 2008** : début de fonctionnement de l'Agence européenne des produits chimiques (basée à Helsinki) et fin de l'application de la réglementation actuelle sur les substances
- **Dernier trimestre 2008** : échéance du pré-enregistrement pour toutes les substances produites ou importées à plus d'une tonne par an

Sous réserve que les substances aient été pré-enregistrées, les délais pour l'enregistrement sont les suivants :

Catégorie	Délais pour l'enregistrement	Estimation du nombre des substances
> 1000 t/an	3,5 ans	2 300
CRR 1 et 2 > 1 t/an	3,5 ans	850
R50/53 > 100 t/an	3,5 ans	
> 100 t/an	6 ans	2 500
> 10 t/an	11 ans	5000
> 1 t/an	11 ans	20 000

*Tableau 1 : Délais d'enregistrement*

### En conclusion :

● REACH n'est plus un projet lointain : ce sera le cadre réglementaire pour les substances chimiques dès 2007. C'est un changement d'échelle en matière de politique du risque chimique lié au produit. C'est également un changement culturel pour l'industrie et les autorités.

- REACH remplacera un certain nombre de règlements et directives.
- Les utilisateurs de substances chimiques en aval sont concernés par cette réglementation au même titre que les producteurs ou importateurs.
- Le pré-enregistrement est une échéance importante qu'il convient de préparer dès aujourd'hui. ■

# 2

## Les aspects réglementaires de REACH

**Annick Pichard**

*Directrice adjointe du Bureau de l'Évaluation des Risques des Produits Chimiques (BERPC)*

**REACH** vise à :

- Renforcer les connaissances sur les substances chimiques,
- Permettre une meilleure gestion des risques liés à leur production et utilisation,
- Accroître la protection de la santé humaine et de l'environnement,
- Assurer une meilleure information de l'ensemble des acteurs,
- Préserver la compétitivité,
- Etablir des dispositions pour les substances et préparation tant pour la fabrication que pour la mise sur le marché et l'utilisation.

### a) Champ d'application

REACH n'est pas applicable :

- aux substances radioactives,
- aux substances, préparations et articles en dépôt temporaire en zone franche,
- aux intermédiaires non isolés,
- aux transport des substances et préparations,
- aux déchets (directive 75/442/CEE).

Les Etats membres peuvent prévoir des exemptions : défense nationale.

Les médicaments humains et vétérinaires, les denrées alimentaires et les aliments pour animaux y compris les additifs, les substances aromatisantes à usage alimentaire et les additifs pour l'alimentation animale ne sont pas concernés.

Il existe également un certain nombre d'exemptions spécifiques listées dans les annexes du règlement (minéraux, minerais, concentrés de minerais, clinker, gaz naturel, gaz de pétrole liquéfié, condensats de gaz naturels, gaz de transformation et leurs composants, pétrole brut, charbon, coke) ainsi que les polymères et les intermédiaires de synthèse isolés restant sur le site ou isolés transportés.

### b) Enregistrement

Sont concernés par l'enregistrement :

- les substances fabriquées ou importées à plus d'une tonne par an,

- les monomères contenus dans les polymères (Si  $Q > 2\%$  masse/masse ou  $Q =$  ou  $> 1$  t/an),
- les substances contenues dans les articles si la substance est présente dans ces articles à des quantités supérieures à 1 t/an par producteur ou importateur ou si la substance est destinée à être rejetée dans des conditions normales ou raisonnablement prévisibles.

Sont considérés comme enregistrés :

- les produits phytopharmaceutiques et biocides (la Commission ou l'organisme concerné met à la disposition de l'Agence des informations équivalentes à celles requises pour l'enregistrement) ;
- Les substances déjà notifiées au sens de la directive 67/548/CEE et l'Agence attribuera un numéro d'enregistrement dans les 18 mois suivant l'entrée en vigueur de REACH.

Sont exemptés d'enregistrement les substances en Recherche et Développement pendant 5 ans. L'exemption peut être prorogée par l'Agence pour une période supplémentaire de 5 ans et pour les médicaments humains et vétérinaires de 10 ans.

Les informations à soumettre sont fournies par l'industrie qui les exploite pour en assurer une gestion sûre. Elles font l'objet d'un dossier technique et d'un rapport sur la sécurité chimique.

REACH encourage la constitution de consortium pour une soumission conjointe de dossiers, le partage des données, le partage des coûts et éviter la répétition des essais sur les animaux.

Des conditions, sous réserve de justification, permettent de fournir séparément ces données.

Pour les substances nouvelles ne bénéficiant pas d'un régime transitoire, la date limite d'enregistrement est de 60 jours après l'entrée en vigueur du règlement. Pour les substances existantes bénéficiant d'un pré-enregistrement se reporter au tableau 1.

L'Agence européenne des produits chimiques procède à un contrôle de conformité de chaque

enregistrement pour vérifier que tous les éléments prescrits ont été fournis dans un délai de 3 semaines pour les substances nouvelles et de 3 mois pour les substances existantes.

Pour les utilisateurs en aval, il incombe l'obligation d'appliquer les mesures prescrites dans la FDS (Fiche de Données de Sécurité) pour l'utilisation des substances classées dangereuses et de vérifier que les utilisations sont couvertes par le rapport de sécurité (CSA).

### c) Evaluation

Deux types d'évaluation sont mis en place :

#### 1) Evaluation des dossiers

##### ⊙ *Evaluation de la conformité des dossiers*

L'Agence s'assure que :

- les informations requises sont dans le dossier technique,
- l'évaluation du rapport de sécurité est conforme à l'annexe 1,
- toute demande de non soumission conjointe de données est bien justifiée.

L'Agence contrôle au moins 5 % du total des dossiers reçus pour la conformité. Elle communique aux Etats membres la liste des dossiers dont elle a contrôlé la conformité.

Au cas où des informations complémentaires sont demandées, les déclarants ont 12 mois pour mettre l'enregistrement en conformité.

A la fin de l'évaluation du dossier, l'Agence notifie à la Commission et autorités compétentes des Etats membres les informations obtenues et les conclusions.

##### ⊙ *Evaluation des propositions d'essais chez l'animal*

Cette évaluation a pour objectif d'éviter les essais inutiles.

Elle est obligatoire pour, en priorité, les substances PBT/vPvB, sensibilisantes et/ou CMR produites à plus de 100 t/an et classées dangereuses selon la directive 67/548/CEE avec usages menant à une large et diffuse exposition.

L'élaboration d'un projet de décision est nécessaire pour les :

- substances "non phase-in" : 180 jours après réception du dossier
- substances " phase-in " Q > 1000t/an : 5 ans
- substances " phase-in " Q > 100t/an : 9 ans
- substances " phase-in " Q > 1t/an : 15 ans

#### 2) Evaluation des substances

Les critères de détermination des substances à évaluer sont basés sur le risque qu'elles présentent

(informations sur danger, exposition, quantités).

L'Agence établit un plan d'action sur 3 ans indiquant les substances évaluées chaque année, plan qui doit être adopté par les Etats membres et publié sur le site internet de l'Agence.

Cette évaluation est faite par l'autorité compétente (ou un organisme désigné pour agir en son nom) d'un Etat membre désigné.

Un Etat membre peut également choisir une substance ou notifier à l'Agence une substance à évaluer.

L'autorité compétente dispose de 12 mois pour procéder à l'évaluation. Passé ce délai, l'autorité compétente étudie la manière d'utiliser les informations (autorisation, restriction).

### d) Autorisation

L'autorisation a pour but d'assurer un bon fonctionnement du marché intérieur tout en garantissant la maîtrise des risques des substances extrêmement préoccupantes et leur remplacement à terme.

La Commission est compétente pour prendre les décisions concernant les demandes d'autorisation.

L'autorisation est octroyée si le risque est dûment maîtrisé ou si la substance présente un avantage socio-économique et qu'il n'existe pas de substances ou de technologies de remplacement.

### e) Restriction

Une restriction correspond à toute condition ou interdiction concernant la fabrication, l'utilisation ou la mise sur le marché d'une substance en tant que telle ou contenue dans une préparation.

### f) La place de l'expertise : le rôle des acteurs

#### 1) Les industriels

Ils fabriquent, importent et mettent sur le marché.

Ils élaborent les dossiers soumis à l'enregistrement.

Ils proposent des dossiers d'autorisation.

Ils définissent la classification et l'étiquetage des substances ou préparations.

Ils participent à l'élaboration des RIP.

#### 2) L'Agence européenne des produits chimiques

Elle doit gérer et assurer la cohérence sur les aspects techniques et scientifiques de REACH.

Elle comporte trois comités :

- Comité d'évaluation des risques,
- Comité d'analyse socio-économique,
- Comité des Etats membres.

Elle a en charge deux types d'évaluation :

- Evaluation des propositions d'essais chez l'animal,
- Evaluation des dossiers.

### 3) Les autorités compétentes des Etats membres (ou les organismes d'expertise)

Dans le cadre de l'enregistrement, elles répondent aux appels d'offre de l'Agence relatifs aux propositions d'essais chez l'animal.

Elles procèdent à l'évaluation des substances.

Elles élaborent des dossiers pour des demandes d'autorisation, de restriction ou de classification et d'étiquetage.

Elles poursuivent des développements méthodologiques (guides, méthodes alternatives, etc.).

### En conclusion :

- REACH est une opportunité pour les “parties prenantes” de mieux connaître les substances chimiques et d'assurer la gestion des risques
- REACH accroît la responsabilité des industriels
- REACH renforce la gestion des substances chimiques au niveau européen avec la création de l'Agence européenne des produits chimiques
- REACH permet de connaître les usages des substances par les utilisateurs en aval. ■



# 3

## Le point de vue de l'Industrie : cas de l'industrie des produits aromatiques

*Jean Mane*  
*Président Société MANE*

La création en Parfumerie a pour origine les extraits naturels et ne peut s'en passer car ils confèrent une note unique aux compositions des parfumeurs. Ces produits naturels sont des substances complexes, constituées de centaines de molécules biosynthétisées par les végétaux et dont les proportions varient d'une production à l'autre, d'un pays à l'autre, d'un millésime à l'autre, comme toute production agricole.

Or, dès 2007, REACH obligera les producteurs, importateurs ou utilisateurs de produits naturels à enregistrer ces substances en fonction du tonnage produit à partir d'une tonne par an. La complexité et la variabilité de ces produits indispensables pour la créativité mais surtout la continuité d'approvisionnement de ce qui est à l'heure actuelle sur le marché européen ne permet pas, dans la majeure partie des cas, ce type d'enregistrement et contraindrait les fabricants et utilisateurs de parfums à se tourner de plus en plus vers les produits chimiques de synthèse, parfaitement enregistrables et répertoriés.

Dans une perspective de développement durable, on n'ose imaginer condamner à la synthèse totale ces produits naturels et toutes ces merveilles qui ont flatté nos nez et nous ont apporté bien-être et enchantement depuis des millénaires. Est-ce bien là ce que souhaitent les consommateurs ou ce qu'ont imaginé les législateurs qui doivent finaliser REACH ?

L'industrie, dans une attitude responsable, propose que l'application de REACH soit adaptée au cas particulier de ces produits en examinant de près leur réel impact environnemental et leurs effets sur la santé ou le bien-être des consommateurs. L'ensemble des organisations professionnelles (AISE, COLIPA, EFFA, IFRA, EFEO, IFEAT, UNITIS et EUROPAM) ont d'ailleurs élaboré une position commune.

Les SNC (Substances Naturelles Complexes) sont obtenues par diverses techniques de séparation, en soumettant des parties spécifiques de la plante à différents traitements physiques appro-

priés (extraction, distillation, expression, fractionnement, purification, concentration, fermentation, etc.). Ces différentes techniques permettent d'obtenir des huiles essentielles, des extraits, des huiles végétales fixes et des extraits pour les cosmétiques.

Elles constituent un sous-groupe des « Substances de Composition Variable ou Inconnue, produits de réaction complexes ou matériaux biologiques – UVCBs » incluant les huiles essentielles et les extraits naturels.

Dans son considérant 31, le règlement prévoit que les RIPs (REACH Implementation Project) prendront en compte les spécificités des « substances d'origine naturelle » comme les SNC en particulier en ce qui concerne leur enregistrement sous REACH.

Le considérant 41 reconnaît la variabilité des SNC et admet que sous certaines conditions, le regroupement des SNC est possible et acceptable en vue de leur enregistrement.

Un guide spécifique pour l'identification et la caractérisation des SNC vient d'être finalisé dans le RIP 3.10. Cependant, ce guide n'est pas suffisant pour prendre en compte tous les problèmes spécifiques que posent la variabilité et la complexité des SNC en vue de leur enregistrement sous REACH. D'ailleurs, l'industrie l'a démontré lors du programme SPORT (Strategic Partnership On REACH Testing), l'enregistrement des SNC pose un certain nombre de questions sensibles qui n'ont pas à ce jour trouvé de solution.

Un guide technique spécifique donnant une méthodologie justifiée par le considérant 41 est nécessaire pour assurer une approche homogène des enregistrements des SNC.

Ce guide doit permettre une classification et une évaluation du risque des SNC basées sur une combinaison d'approches variées, parmi lesquelles on peut citer :

- les données de test sur les SNC,
- l'évaluation des données sur les composants significatifs des SNC présents à leur concen-

tration la plus élevée (au sein d'un groupe homogène de classification et de profils de danger),

- une lecture croisée pour les SNC similaires,
- les données collectées lors de l'utilisation historique des SNC.

Les organisations professionnelles représentatives de la filière entière des produits naturels offrent de contribuer à la mise en place de ce guide technique.

La classification et l'évaluation du risque des SNC peuvent être réalisées en combinant différentes approches pour la collecte des données :

- données collectées lors de tests sur les SNC elles-mêmes,
- données provenant d'une utilisation historique sans danger,
- données collectées sur les constituants principaux ou spécifiques,
- lecture croisée de données obtenues sur des constituants similaires ou des SNC similaires.

La stratégie dépendra de la nature de la SNC elle-même selon :

- son niveau de complexité,
- les données d'évaluation à renseigner dans le dossier REACH,
- le degré de connaissance de sa composition complexe et sa variabilité,
- la présence ou l'absence de constituants à "risques" connus pour la santé humaine et l'environnement,
- les données disponibles sur la SNC,
- le degré de similitude avec d'autres SNC connues.

La plupart des SNC (en majorité des huiles essentielles) ont des compositions bien connues (au moins > 90 % de leurs constituants ont été identifiés par des moyens d'analyse divers).

Seules quelques huiles essentielles sont incomplètement connues et les quelques absolues ou concrètes à enregistrer sont partiellement inconnues à des degrés différents.

La complexité de leur composition peut varier énormément de simple (huile essentielle de pamplemousse ou d'orange douce contenant environ 95 % de d-limonène, huile essentielle de shiu contenant 95 % de linalol), à très complexe, comme l'huile essentielle de vétiver comprenant plus de 100 constituants, dont la moitié sont incomplètement caractérisés pour atteindre une connaissance de 90 % de cette huile essentielle.

On dispose, dans la plupart des cas, d'un certain nombre de constituants purs, mais d'autres ne sont pas disponibles. La variabilité quantitative des

SNC est importante, quelle que soit l'approche choisie pour l'enregistrement de la SNC.

Pour démontrer la difficulté de l'application de REACH aux SNC, l'exemple du cas de l'huile essentielle de vétiver est exposé :

L'huile essentielle de vétiver est produite par hydrodistillation des racines de *Vétyveria zizanoides*.

Sa composition est fort complexe et contient de nombreuses structures sesquiterpéniques (hydrocarbures, alcools ou cétones).

Bien que l'origine Haïti soit le standard de la profession, les crises politiques, les catastrophes climatiques (sécheresse, cyclones, etc.) ou les mauvaises conditions économiques (crise du pétrole) peuvent conduire à des pénuries et des origines alternatives ont émergé d'autres pays (Brésil, Chine, Inde, Indonésie, Madagascar, Mexique, Ile de la Réunion, El Salvador).

Une étude scientifique récente (Chalchat et coll., Journal of Essential Oil Research 18, 1416-422 Juillet-Août 2006) a publié la composition des huiles de vétiver des différentes origines. Elle démontre que l'huile essentielle de vétiver est une SNC de composition variable selon son origine géographique. La composition totale peut ainsi varier :

- hydrocarbures : 14,0 – 32,6 %
- cétones : 10,5 – 17,7 %
- alcools : 23,6 – 50,4 %

Bien que les synthèses totales de certains composants ( $\alpha$  et  $\beta$  vétivones, khusimone et alcools dérivés) aient fait l'objet de nombreuses recherches académiques, peu de ces synthèses ont été développées au stade industriel. En conséquence, peu de molécules de synthèse pures (même sous forme de mélanges racémiques) sont disponibles pour effectuer des études toxicologiques et éco-toxicologiques.

Il est donc préférable, en raison de sa complexité extrême, de s'orienter sur des méthodes de test mettant en œuvre l'huile essentielle de vétiver en tant que substance naturelle complexe sans la décomposer en ses constituants.

Deux approches complémentaires, selon que la SNC est de composition connue ou de composition très complexe, sont basées sur les constituants.

- ◎ Pour les SNC de composition bien connue :
  - constitution d'une liste de tous les constituants avec leur concentration moyenne représentant plus de 90 % de la composition de la SNC (chromatogramme en phase vapeur) ;

- concentrations maximum et minimum “réalistes” des constituants principaux (1%) obtenues par analyse statistique des données analytiques historiques concernant cette SNC (on propose d'utiliser les 5th et 95th percentiles de la distribution de concentration “réaliste” minimum/maximum) ;
  - les autres constituants mineurs seront identifiés en fonction des règles applicables en la matière comme la directive sur les produits dangereux (DPD).
- ⊙ Pour les SNC de composition très complexes :
- un petit nombre de SNC n'a pas de composition bien définie ;
  - des huiles essentielles très importantes ne sont pas caractérisées à 90 % ou plus : vétiver, cèdre, patchouli ;
  - cependant, dans la mesure des connaissances, on donnera leur composition connue selon la même méthode et on recherchera les meilleures équivalences (par regroupement ou lecture croisée) ;
  - quelques rares extraits aux solvants comme les concrètes, absolues et autres extraits botaniques comme l'extrait de *Calendula officinalis*, devront être enregistrés et constituent les exemples les plus complexes ; seule la partie volatile odoriférante de l'extrait est connue et représente au mieux 50 % de la composition de l'extrait.

La classification et l'étiquetage des SNC sont également problématiques :

- sous le même numéro EINECS (inventaire européen des substances commerciales existantes), les SNC peuvent avoir différentes compositions chimiques et classification de danger ;
- ces différences peuvent s'expliquer par les espèces utilisées, la partie de la plante traitée, le type de procédé, la période de récolte, les différences de millésimes, l'origine géographique ;
- selon la DSD (Directive sur les Substances Dangereuses), les SNC peuvent être classées sur la base des données obtenues sur la SNC elle-même ; cette approche est sujette à une variabilité qualitative ;
- si les données des tests sur les SNC manquent, le guide de l'Union européenne DSD annexe VI 93/21/CEE permet la classification de danger des substances complexes en fonction de l'abondance de leurs constituants les plus dangereux ;
- la classification et l'étiquetage de ces SNC doivent suivre les règles applicables aux préparations dangereuses selon la DPD (Directive sur les Préparations Dangereuses).

En utilisant pour la première fois cette approche, la classification et l'étiquetage des SNC les plus utilisées par la profession ont été publiés le 28 août 2006 par EFFA (European Flavour and Fragrance Association) dans son premier “Code of Practice” en mettant en commun les meilleures données disponibles à ce jour dans l'industrie et en prenant en compte l'abondance naturelle des 135 substances susceptibles de contribuer de manière appréciable à la classification et à l'étiquetage selon la DPD.

Les utilisateurs de ce code doivent prendre en compte les sources de variabilité décrites précédemment, la classification et l'étiquetage des SNC particulières devant être basés sur l'abondance constatée des substances chimiques pouvant influencer la classification et l'étiquetage.

A la lumière du considérant 41, les SNC présentant différents niveaux de classification de danger pour l'environnement et/ou la santé publique doivent être distribuées en sous-catégories. Ces sous-catégories seraient enregistrées sur la base de leur tonnage de production annuelle le plus bas, procurant ainsi des éléments statistiques robustes pour la composition et l'utilisation annuelle.

La sélection des échantillons de SNC pour les tests serait basée sur l'examen de la présence de constituants pouvant influencer de manière significative sur les résultats des tests à exécuter. Elle se ferait en fonction de la concentration “réaliste” maximum des constituants dangereux selon ces critères spécifiques. La même méthodologie est proposée pour les SNC les plus complexes, en se basant sur les seuls constituants identifiés dans la partie volatile.

Les tests imposés par REACH sont sujets à caution pour les SNC.

Les plus controversés sont :

- pour les propriétés physico-chimiques : les points de fusion et de congélation, le point d'ébullition, la pression de vapeur, la solubilité dans l'eau, le coefficient de partage, l'auto-ignition : ces données ont un sens dans le cas des substances chimiques pures mais pas dans le cas de pseudo-mélanges complexes ;
- pour les propriétés éco-toxicologiques : dégradation des substances complexes (biodégradabilité avérée, test de simulation pour la biodégradation ultime à la surface de l'eau, test de simulation sur sol et sédiments, identification des produits de dégradation), hydrolyse en fonction du pH, comportement dans l'environnement (étude de screening en absorption/désorption, bioconcentration dans une espèce de poisson aquatique, effets sur les organismes terrestres) ;

Ces critères de tests soulèvent des problèmes de faisabilité et d'interprétation dus à la nature des SNC. Des propositions spécifiques de méthodes appropriées devraient être recommandées. Il est possible de les suggérer et d'étayer un argumentaire à ce sujet selon certains articles de REACH.

Le tableau ci-après résume une enquête réalisée par l'EFFA, sur la production et l'importation actuelles des SNC (environ 750 SNC).

Volume t/an	Extraits naturels (environ 120)	Molécules (environ 630)
> 1 000	0	≈ 5 %
> 100	≈ 10 %	≈ 15 %
10-100	≈ 30 %	≈ 30 %
1-10	≈ 60 %	≈ 50 %

*Tableau 2 : Production et importation des SNC*

Un certain nombre d'initiatives sont en cours visant à :

- affiner le travail d'inventaire par le biais des enquêtes ;
- identifier les substances éventuellement concernées par le risque PBT/vPvB ou CMR. Mise en place de stratégies lorsque ces substances ne présenteraient pas les risques signalés pour des modèles de calcul prédictifs basés sur des valeurs par défaut ;

- Travailler sur le concept de regroupement des substances (en priorité celles de plus de 1 000 t/an en se basant sur les résultats de précédents travaux du type HPV (High Production Volume) ;
- Assister les premiers consortiums pour les substances produites ou importées > 1 000 t/an. Mais l'EFFA ne sera qu'un facilitateur : c'est aux compagnies à faire leur pré-enregistrement, à constituer leurs dossiers, à fonder ou rejoindre des consortiums. ■

# 4

## Les aspects pratiques de l'application de la réglementation REACH dans l'industrie

*Jean-Francois Régnier*

*ARKEMA, département Toxicologie et Environnement*

Les dispositions relatives à l'enregistrement font obligation aux fabricants et aux importateurs de soumettre à l'Agence européenne des produits chimiques, un dossier technique contenant des données sur la substance (propriétés physico-chimiques, toxicologiques et éco-toxicologiques) et des informations sur les mesures de gestion des risques. Les informations demandées sont modulées en fonction des quantités annuelles produites ou importées, puisque ces quantités donnent une indication des risques d'exposition, mais elles peuvent être adaptées aux propriétés intrinsèques et aux conditions d'utilisation de certaines substances.

Les propriétés toxicologiques de chaque substance, si elles ne sont pas déjà connues, peuvent être déterminées par différentes voies (modèles, études épidémiologiques ou essais chez l'animal). Lorsque des essais sont nécessaires et qu'ils impliquent des animaux, les déclarants doivent partager les données pour limiter autant que possible le nombre d'essais réalisés. De plus, un déclarant peut adapter le programme d'essai standard conformément aux règles générales énoncées à l'annexe XI.

### a) Les aspects pratiques du point de vue du toxicologue

#### 1) la phase préparatoire au pré-enregistrement et à l'enregistrement

Pour réaliser cette étape, il convient de :

- identifier l'ensemble des substances et préparations fabriquées ou importées par la société ;
- collecter des informations sur les tonnages, les usages et les conditions de manipulation ;
- identifier les substances et préparations pouvant faire l'objet d'une exemption totale ou partielle (intermédiaires) ;
- identifier les substances devant être enregistrées en priorité (> 1 000 t/an, CMR 1 & 2, R50-53 > 100 t/an) ainsi que les PBT, vPvB, les sensibilisants respiratoires et les substances de préoccupation équivalente (modulateurs endocriniens) ;
- identifier et évaluer les informations toxicologiques (mais aussi physico-chimiques et éco-toxicologiques) disponibles (en interne ou publiées) ;

- identifier les données manquantes pour chaque substance ;
- préparer la formation de consortiums.

#### 2) informations à communiquer en fonction des quantités lors de l'enregistrement

Il convient de communiquer toutes les informations pertinentes disponibles sur les propriétés physico-chimiques, toxicologiques et éco-toxicologiques en fonction des volumes :

- ⊙ Entre 1 et 10 t/an : selon les cas,
  - minimum : propriétés physico-chimiques
  - maximum : intégralité de l'annexe VII
- ⊙ Entre 10 et 100 t/an :
  - Les informations visées aux annexes VII et VIII.
- ⊙ Entre 100 et 1 000 t/an :
  - Les informations visées aux annexes VII et VII + propositions d'essais pour l'annexe IX.
- ⊙ > 1 000 t/an :
  - Les informations visées aux annexes VII et VIII + propositions d'essais pour les annexes IX et X.

### b) Des informations toxicologiques : pour quoi faire ?

Elles servent essentiellement à évaluer les risques pour la santé humaine.

Il convient :

- ⊙ d'identifier les dangers de chaque substance :
  - identification des dangers, profil toxicocinétique, toxicité aiguë, irritation, corrosion, sensibilisation, effets à doses répétées, cancérogenèse, mutagenèse/génotoxicité, reprotoxicité (CMR) ;
  - établissement des relations effet-dose ;
  - préparation du « résumé d'étude consistant » pour les études les plus critiques et inclusion dans le « dossier technique ».
- ⊙ de déterminer la classification et l'étiquetage de la substance.
- ⊙ d'identifier la dose sans effet pour l'homme (DNEL), c'est-à-dire la plus forte dose/concentration à laquelle l'homme peut être exposé sans ressentir des effets adverses sur sa santé.

Pour déterminer la DNEL, il faut considérer pour chaque voie la durée et la fréquence d'exposition, le type de population exposée (travailleurs, consommateurs) ou exposée indirectement à travers l'environnement et chaque sous-population (enfants, femmes enceintes) et en appliquant des facteurs de sécurité tenant compte de la variabilité du modèle expérimental, des variations de sensibilité intra et inter-espèces, de la nature et la sévérité des effets et enfin de la sensibilité des sous-populations humaines.

⊙ de caractériser les risques c'est-à-dire de comparer d'une part, l'exposition de chaque population humaine dont on sait qu'elle est ou qu'elle

sera probablement exposée et, d'autre part, les DNEL pertinentes.

### c) Le régime d'essais standard

Les annexes VII à X du règlement REACH donnent les exigences en matière d'information standard pour les substances fabriquées ou importées en fonction du volume :

	<i>quantités égales ou supérieures à</i>
Annexe VII :	1 t
Annexe VIII :	10 t
Annexe IX :	100 t
Annexe X :	1 000 t

Informations exigées	Règles spécifiques applicables aux adaptations par rapport à la colonne 1	VII 1-10	VIII 10-100	IX 100-1000	X >1000
<b>8.1 Irritation ou corrosion cutanée <i>in vitro</i></b> L'évaluation de cet effet comprend les étapes consécutives suivantes : <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ une évaluation des données humaines et animales disponibles</li> <li>▪ une évaluation de la réaction acide ou alcaline</li> <li>▪ une étude <i>in vitro</i> de la corrosion cutanée</li> <li>▪ une étude <i>in vitro</i> de l'irritation cutanée</li> </ul>	Les étapes 3 et 4 ne sont pas nécessaires si : <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ classement C ou Xi R38 selon étape 1 ou</li> <li>▪ pH &lt; 2,0 ou pH &gt; 11,5 ou</li> <li>▪ inflammable dans l'air à température ambiante ou</li> <li>▪ aucune irritation cutanée à 2 000 mg/kg dans l'étude de toxicité aiguë</li> </ul>	✓	✓	✓	✓
<b>8.1.1 Irritation cutanée <i>in vivo</i></b>	L'étude ne doit pas être réalisée si : <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ idem que précédemment ou</li> <li>▪ classée C ou Xi R38 selon 6.1</li> </ul>	✓	✓	✓	✓
<b>8.2 Irritation oculaire</b> L'évaluation de cet effet comprend les étapes consécutives suivantes : <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Une évaluation des données humaines et animales disponibles</li> <li>▪ Une évaluation de la réaction acide ou alcaline</li> <li>▪ Une étude <i>in vitro</i> de l'irritation oculaire</li> </ul>	L'étape 3 n'est pas nécessaire si : <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ classement C ou Xi R36 selon étape 1 ou</li> <li>▪ pH &lt; 2,0 ou pH &gt; 11,5 ou</li> <li>▪ inflammable dans l'air à température ambiante</li> </ul>	✓	✓	✓	✓
<b>8.2.1 Irritation oculaire <i>in vivo</i></b>	L'étude ne doit pas être réalisée si : <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ idem que précédemment ou</li> <li>▪ classée Xi R41 selon 6.2 ou C selon 6.1</li> </ul>		✓	✓	✓
<b>8.3 Sensibilisation cutanée</b> L'évaluation de cet effet comprend les étapes suivantes : <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ une évaluation des données humaines, animales ou alternatives disponibles</li> <li>▪ test <i>in vivo</i> (LLNA de préférence)</li> </ul>	L'étape 2 n'est pas nécessaire si : <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ C ou Xi R43 selon l'étape 1 ou</li> <li>▪ pH &gt; 2,0 ou pH &gt; 11,5 ou</li> <li>▪ inflammable dans l'air à température ambiante</li> </ul>	✓	✓	✓	✓

Informations exigées	Règles spécifiques applicables aux adaptations par rapport à la colonne 1	VII 1-10	VIII 10-100	IX 100-1000	X >1000
<b>8.4 Mutagénicité</b>					
<b>8.4.1 Etude <i>in vitro</i> de mutations géniques sur des bactéries</b>	a = Des études de mutagénicité supplémentaires doivent être envisagées en cas de résultat positif	✓a	✓	✓	✓
<b>8.4.2 Etude <i>in vitro</i> de cytogénicité sur cellules de mammifères</b>	L'étude doit être réalisée si : ▪ des données suffisantes provenant d'un essai de cytogénicité <i>in vivo</i> sont disponibles ou ▪ la substance est connue comme substance cancérigène de catégorie 1 ou 2 ou mutagène de catégorie 1, 2 ou 3	0a	✓	✓	✓
<b>8.4.3 Etude <i>in vitro</i> de mutations géniques sur cellules de mammifères</b>	L'étude ne doit pas être réalisée si des données suffisantes, provenant d'un essai <i>in vivo</i> fiable de mutations géniques sur cellules de mammifères, sont disponibles  b = en cas de résultat négatif à l'annexe V, point 6.4.1 et à l'annexe VI point 6.4.2  c = des études de mutagénicité <i>in vivo</i> appropriées sont envisagées si l'une des études de mutagénicité visées aux annexes V et VI donne un résultat positif	0a	✓b	✓b	✓b
<b>8.5 Toxicité aiguë</b> L'étude ou les études ne doivent pas être réalisées si la substance est corrosive pour la peau	En plus de la voie orale (6.5.1) pour les substances autres que des gaz, les informations visées aux points 6.5.2 et 6.5.3 sont fournies au moins pour une autre voie. Le choix de la deuxième voie dépend de la nature de la substance et de la voie probable de l'exposition humaine. S'il n'existe qu'une seule voie d'exposition, il y a lieu de fournir des informations pour cette voie uniquement				
<b>8.5.1 Par voie orale</b>	d = L'étude ne doit pas être réalisée si une étude de toxicité aiguë par inhalation (6.5.2) est disponible	d✓	d✓	d✓	d✓
<b>8.5.2 Par inhalation</b>	Les essais par inhalation sont appropriés si l'exposition d'êtres humains par inhalation est probable		et/ou ✓	et/ou ✓	et/ou ✓
<b>8.5.3 Par voie dermale</b>	Les essais par voie dermale sont appropriés si : ▪ l'inhalation de la substance est peu probable et ▪ un contact cutané lors de la production et/ou de l'utilisation est probable et ▪ Si les propriétés physicochimiques et toxicologiques donnent à penser que le taux d'absorption cutanée est important		et/ou ✓	et/ou ✓	et/ou ✓

Informations exigées	Règles spécifiques applicables aux adaptations par rapport à la colonne 1	VII 1-10	VIII 10-100	IX 100-1000	X >1000
<p><b>8.6 Toxicité par administration répétée</b></p> <p><b>8.6.1 Etude de la toxicité à court terme par administration répétée (28 jours)</b></p> <p>Une seule espèce, mâle ou femelle, voie d'administration la plus appropriée, compte tenu de la voie probable de l'exposition humaine</p>	<p>L'étude de toxicité à court terme (28 jours) ne doit pas être réalisée si :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ une étude de toxicité subchronique (90 jours) fiable est disponible à condition qu'une espèce et une voie d'administration appropriées aient été utilisées ou</li> <li>▪ une substance subit une désintégration immédiate et s'il existe des données suffisantes sur les produits de dissociation ou</li> <li>▪ une exposition humaine peut être exclue selon l'annexe IX</li> </ul> <p>La voie d'administration appropriée est choisie sur la base des éléments suivants :</p> <p><i>Les essais par voie cutanée</i> sont appropriés si :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ l'inhalation de la substance est peu probable et</li> <li>▪ un contact cutané lors de la production et/ou de l'utilisation est probable et</li> <li>▪ les propriétés physicochimiques donnent à penser que le taux d'absorption cutanée est important</li> </ul> <p><i>Les essais par inhalation</i> sont appropriés si l'exposition d'êtres humains par inhalation est probable</p> <p>e = l'étude de toxicité subchronique (90 jours) annexe VII point 6.6.2 est proposée par le déclarant si la fréquence et la durée de l'exposition humaine montrent qu'une étude à plus long terme est appropriée et l'une des conditions suivantes est remplie :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ d'autres données disponibles indiquent que la substance pourrait avoir une propriété dangereuse qu'une étude de toxicité à court terme ne permet pas de détecter ou</li> <li>▪ des études toxicocinétiques conçues de manière appropriée révèlent une accumulation de la substance ou de ses métabolites dans certains tissus ou organes, qu'une étude de toxicité à court terme pourrait ne pas détecter mais qui risque de produire des effets nocifs après une exposition prolongée</li> </ul> <p>f = sauf si une étude 90 jours est proposée en 6.6.2</p>		e0	f ✓	f ✓



Informations exigées	Règles spécifiques applicables aux adaptations par rapport à la colonne 1	VII 1-10	VIII 10-100	IX 100-1000	X >1000
<p><b>8.6.2 Etude de toxicité sub-chronique (90 jours)</b></p> <p>Une seule espèce, rongeur mâle et femelle, voie d'administration la plus appropriée, compte tenu de la voie probable de l'exposition humaine.</p> <p>Des études supplémentaires sont proposées par le déclarant ou peuvent être exigées par l'Agence conformément aux articles 39 et 40 dans les cas suivants :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ non-identification d'un NOAEL dans l'étude de 90 jours, sauf si la raison de cette non-identification réside dans l'absence d'effets toxiques nocifs ou</li> <li>▪ toxicité suscitant une préoccupation particulière (par exemple des effets sérieux ou graves) ou</li> <li>▪ indications de l'existence d'un effet dont les éléments disponibles ne permettent pas la caractérisation toxicologique et/ou la caractérisation des risques. Dans ces cas là, il peut être préférable de réaliser des études toxicologiques spécifiques visant à examiner l'effet en cause (par exemple : immunotoxicité, neurotoxicité) ou</li> <li>▪ préoccupation particulière concernant une exposition (par exemple utilisation dans des produits de consommation, entraînant des niveaux d'exposition proches de dose auxquels une toxicité pour l'être humain peut être anticipée)</li> </ul> <p>Une seule espèce, mâle ou femelle, voie d'administration la plus appropriée, compte tenu de la voie probable de l'exposition humaine</p>	<p>L'étude de toxicité subchronique (90 jours) ne doit pas être réalisées si :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ une étude fiable de toxicité à court terme (28 jours) est disponible, montrant qu'il existe des effets de toxicité graves selon les critères de classification de la substance comme R48, pour lesquels le NOAEL 28 jours observé, avec application d'un facteur d'incertitude approprié, permet une extrapolation au NOAEL 90 jours pour la même voie d'exposition</li> <li>▪ une étude fiable de toxicité chronique est disponible, à condition que des espèces et une voie d'administration appropriés aient été utilisés ou</li> <li>▪ une substance subit une désintégration immédiate et s'il existe des données suffisantes sur les produits de dissociation ou</li> <li>▪ la substance est non réactive, insoluble et non inhalable est si un essai limite 28 jours n'apporte aucune preuve d'absorption ni de toxicité notamment si cette utilisation est couplée avec une exposition humaine limitée</li> </ul> <p>La voie d'admission appropriée est choisie sur le même base que pour l'étude de toxicité à court terme par administration répétée (28 jours)</p>		e0	✓	✓
<p><b>8.7 Toxicité pour la reproduction</b></p>	<p>g = Les études ne doivent pas être réalisées si :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ substance cancérogène génotoxique ou</li> <li>▪ substance mutagène pour les cellules germinatives ou</li> <li>▪ une exposition humaine peut être exclue conformément à la section 3 de l'annexe IX ou</li> <li>▪ une étude de toxicité pour le développement ou une étude 2 générations est disponible ou</li> <li>▪ substance reprotoxique cat 1 ou 2 R60 (uniquement 6.7.2) ou</li> <li>▪ substance toxique pour le développement cat 1 ou 2 R61 (uniquement 6.7.1 ou 6.7.3)</li> <li>▪ substance à faible activité toxicologique si aucune absorption systémique ne se produit et s'il n'y a pas d'exposition humaine importante</li> </ul>		note g 1-6	note g 1-7	note g 1-7

Informations exigées	Règles spécifiques applicables aux adaptations par rapport à la colonne 1	VII 1-10	VIII 10-100	IX 100-1000	X >1000
<p><b>8.7.1 Dépistage de la toxicité pour la reproduction/le développement</b></p> <p>Une seule espèce (OCDE 421) si les informations disponibles sur les substances ayant une structure similaire les estimations QSAR ou les méthodes <i>in vitro</i> ne donnent à penser que le substance pourrait être toxique pour le développement</p>	<p>h = Dans les cas où les effets nocifs potentiels sur la fertilité ou le développement suscitent de sérieuses préoccupations, le déclarant peut proposer de remplacer l'étude de dépistage (point 6.7.1) par une étude de toxicité au stade du développement prénatal (annexe VII point 6.7.2) ou une étude de toxicité pour la reproduction sur deux générations (annexe VII point 6.7.3)</p>		h ✓	✓	✓
<p><b>8.7.2 Etude de la toxicité pour le développement</b></p> <p>Voie d'administration la plus appropriée, compte tenu de la voie probable de l'exposition humaine</p>	<p>i = L'étude est effectuée initialement sur une espèce. En fonction du résultat du premier essai, il peut être décidé d'effectuer une étude sur une deuxième espèce</p>		hi 0	i ✓	i ✓
<p><b>8.7.3 Etude de la toxicité pour la reproduction sur deux générations</b></p> <p>Une seule espèce, mâle ou femelle, voie d'administration la plus appropriée, compte tenu de la voie probable de l'exposition humaine</p>	<p>j = si l'étude de 28 jours ou de 90 jours fait apparaître des effets nocifs sur les organes ou des tissus reproductifs</p>			j ✓	j ✓
<p><b>8.9.1 Etude de cancérogénèse</b></p> <p>Si la substance est classée mutagène catégorie 1 ou 2, il est présumé que le mécanisme de l'activité carcinogène est génotoxique. Dans ce cas, une étude de cancérogénèse ne sera pas demandée</p>	<p>Une étude de carcinogénicité peut être proposée ou peut être exigée par l'Agence conformément aux articles 39 ou 40 si :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ la substance a une utilisation dispersive répandue ou s'il existe des preuves d'une exposition humaine fréquente ou durable et</li> <li>▪ la substance est classée mutagène, catégorie 3 ou si la ou les études par administration répétée montrent qu'elle peut provoquer l'hyperplasie et/ou des lésions préneoplastiques</li> </ul> <p>Si les substances sont classées comme mutagènes, catégorie 1 ou 2, l'hypothèse par défaut d'un mécanisme génotoxique de carcinogénicité est probable. Dans ces cas, un essai de carcinogénicité n'est normalement pas nécessaire</p>				0

Tableau 5 : Exemples d'exigences en matière d'information

## **d) L'annexe XI : Règles générales d'adaptation du régime d'essais standard visé aux annexes VII à X**

L'article 10 du règlement fait état des obligations générales relatives à la production d'informations sur les propriétés intrinsèques des substances qui peuvent être produites par d'autres moyens que les essais, notamment par le recours à des modèles de relations qualitatives ou quantitatives structure/activité ou par l'exploitation de données sur des substances structurellement proches (regroupement ou références croisées) pour autant que les conditions énoncées à l'annexe XI soient respectées.

Il est également possible de renoncer aux essais à réaliser conformément à l'annexe VIII, section 6.6 et 6.7 et aux annexes IX et X lorsque cela est justifié par des informations concernant l'exposition et la mise en œuvre de mesures de gestion des risques conformément à l'annexe XI section 3.

### **1) les essais n'apparaissent pas comme nécessaires du point de vue scientifique :**

#### ☉ Utilisation de données existantes :

Données sur les propriétés physico-chimiques provenant d'expériences non effectuées conformément aux BPL ou aux méthodes standard citées à l'article 13 (2) ;

Données provenant d'essais sur animaux non effectués conformément aux BPL ou aux méthodes standard citées à l'article 13 (2) si les données sont exploitables pour la classification, l'étiquetage ou l'évaluation des risques, si elles donnent une couverture adéquate et valide des paramètres clés évalués par les méthodes standard, si la durée de l'exposition est comparable ou supérieure à celles des méthodes standard correspondantes et si la documentation de l'étude est adéquate et valide ;

Données humaines historiques pertinentes et valides : études épidémiologiques ou cliniques, exposition accidentelle ou professionnelle.

#### ☉ Eléments de preuve :

Plusieurs études ou informations indépendantes permettant de conclure sur la dangerosité de la substance.

#### ☉ Relations structure/activité (QSAR) :

Elles peuvent remplacer les tests lorsque les résultats proviennent de modèles QSAR validés, que la substance entre dans le domaine d'application du modèle QSAR, que les résultats sont pertinents pour la classification, l'étiquetage et l'évaluation du risque et qu'il existe une documentation adéquate et valide.

#### ☉ Utilisation de méthodes *in vitro* (suffisamment bien développées) :

L'identification d'un effet toxique par un test *in vitro* peut être confirmée immédiatement pour une substance régie par les annexes VII ou VIII et est une proposition de confirmation pour une substance régie par les annexes IX et X.

Si le test *in vitro* est négatif, la confirmation peut ne pas être nécessaire si les résultats proviennent de méthodes *in vitro* scientifiquement et internationalement validées ou si les résultats sont pertinents pour la classification, l'étiquetage et l'évaluation du risque.

#### ☉ Regroupement de substances par catégorie :

Ceci permet d'évaluer les propriétés physico-chimiques, toxicologiques et éco-toxicologiques d'une substance à partir des données disponibles pour d'autres substances de la même famille chimique (read-across). La similitude est basée sur un groupement fonctionnel commun, des précurseurs communs et/ou des produits de dégradation communs par processus physico-chimiques ou biologiques et un gradient constant dans le changement des propriétés à travers la catégorie. Les substances doivent être classées et étiquetées sur cette base.

### **2) les essais sont techniquement impossibles**

### **3) les essais tenant compte de l'exposition sont scientifiquement adaptés à une substance :**

Selon le scénario d'exposition du CSR, les études par administrations répétées (8.6) et de toxicité pour la reproduction (8.7) peuvent ne pas être effectuées sous réserve d'une justification et d'une documentation adéquate.

## **En conclusion :**

Le règlement REACH fait une place importante à l'utilisation de méthodes alternatives à l'expérimentation animale mais il conviendra de développer rapidement ces méthodes. ■

# 5

## REACH : Plans d'évaluation et stratégies à mettre en œuvre

*Catherine Pelcot*

*CIT, Affaires réglementaires*

L'entrée en vigueur de REACH est imminente (prévue pour le premier semestre 2007). Il est de la plus haute importance pour les entreprises quel que soit leur statut de commencer à s'y préparer. Les premières échéances du texte sont prévues à compter de la mi-2008 (pour l'enregistrement des nouvelles substances et le début de la période de pré-enregistrement). Sur la base de l'inventaire des substances (seules ou dans les préparations, voire dans les articles), les entreprises doivent déterminer leur propre statut vis-à-vis de REACH : fabricant, importateur, distributeur, utilisateur en aval... puis vérifier le statut des substances (substances phase-in, non phase-in, notifiées, nouvelles au sens de REACH ...) en distinguant les substances « particulières » : monomères, intermédiaires, etc.

Les fabricants et importateurs auront principalement pour objectif de préparer les phases de pré-enregistrement et de partage des données, puis d'enregistrement.

Les utilisateurs en aval auront pour mission prioritaire de veiller à la pérennité et à la sécurité de leur approvisionnement en matière première, ce qui nécessite qu'ils se rapprochent de leurs fournisseurs.

REACH a notamment pour objectif de compléter les informations sur les propriétés intrinsèques des substances existantes. Cependant, REACH place essentiellement sous la responsabilité des fabricants et importateurs de partager leurs données afin de réduire les essais sur les animaux, en particulier vertébrés et d'en limiter les coûts. C'est ainsi que l'ensemble des données disponibles et pertinentes doit être communiqué dans le cadre de l'enregistrement. Les résultats des essais sur les animaux vertébrés devront être obligatoirement partagés ; ce principe s'applique aux essais non pratiqués sur des animaux vertébrés dès lors qu'un requérant en formule la demande. Lorsqu'il apparaît qu'un essai doit être réalisé, un seul essai ne peut être pratiqué. REACH donnera lieu à de multiples échanges entre fabricants et importateurs d'une même substance ; ceux-ci seront réali-

sés dans le cadre des forums d'échange. Le règlement donnera les grands principes, mais n'indiquera pas comment, en pratique, nous devons procéder. C'est pourquoi plusieurs guides (TGD) sont en cours d'élaboration. Le projet RIP (REACH Implementation Project) 3.3 a pour vocation de préciser la stratégie d'acquisition des informations sur les propriétés intrinsèques des substances pour limiter les essais en ayant recours à des méthodes alternatives ou en tenant compte des résultats de l'évaluation des risques (Risk Based Waiving).

REACH fait obligation au Déclarant d'utiliser toutes les méthodes alternatives validées et disponibles pour réduire les essais sur animaux. C'est ainsi que les méthodes *in vitro*, des références croisées et du « weight of evidence », ainsi que les QSAR sont privilégiées. Le texte final fera obligation pour l'Agence et la Commission de stimuler la validation de méthodes alternatives et de réviser les annexes du texte qui déterminent les essais à réaliser en y incluant de plus en plus ces nouvelles techniques. A l'heure actuelle, il existe assez peu de méthodes alternatives validées ; elles ne concernent que quelques « end-points ». REACH devrait stimuler la recherche et permettre à moyen terme, de disposer de davantage d'outils permettant de réduire les essais sur animaux. La phase 1 du RIP 3.3 a permis de tester l'approche ITS (Intelligent Testing Strategy) et positionner quelques méthodes alternatives concernant quelques « end-points ». La phase 2 de ce même RIP devrait permettre d'élargir les investigations à l'ensemble des « end-points ».

### **a) Comment se préparer au passage à REACH (évaluation-stratégie)**

La démarche préalable doit se faire en quatre étapes : il convient de procéder à l'inventaire des substances, de définir le statut de l'entreprise, de collecter les informations existantes et d'établir la liste des données manquantes.

Il faut ensuite évaluer les impacts et définir la stratégie d'entreprise.

Cette démarche est résumée dans le tableau suivant :

Inventaire des substances Fabriquées/Importées/Utilisées	Substances telles quelles	
	Substances contenues dans les préparations	Substances dans les articles (relargage intentionnel)
Statut de l'entreprise (rôle dans REACH)	Fabricant Importateur	Distributeur Utilisateur en aval
Objectifs prioritaires	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Priorisation</li> <li>▪ Préparation des phases de pré-enregistrement et enregistrement</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Sécuriser les approvisionnements</li> <li>▪ Contacter les fournisseurs</li> </ul>
Informations existantes	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Propriétés intrinsèques</li> <li>▪ Classification et étiquetage</li> <li>▪ Tonnage annuel</li> <li>▪ Utilisations (propres et avales)</li> <li>▪ Clients</li> </ul>	Sur les substances prioritaires : <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Classification et étiquetage</li> <li>▪ Tonnage annuel</li> <li>▪ Utilisations</li> </ul>
Informations manquantes	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Liste des informations manquantes</li> <li>▪ Estimation des coûts</li> </ul>	

*Tableau 4 : Evaluation préalable à la mise en œuvre de REACH*

En fonction de cette évaluation, le fabricant ou l'importateur devra définir ses choix stratégiques, conserver ou non une substance, estimer les coûts ou utiliser une substance de substitution. Pour le distributeur et l'utilisateur en aval, il conviendra de réfléchir à des modes d'approvisionnement alternatifs (en fonction de la criticité), de changer le statut d'une substance ou sa reformulation.

Afin de limiter le recours à l'expérimentation animale, un certain nombre d'exemptions sont prévues pour l'enregistrement de :

- substances couvertes par une autre législation,
- substances citées dans les annexes IV (acides aminés, acides gras) et V (substances présentes dans la nature - non modifiées -, minéraux, minerais, charbon),
- polymères (exemption provisoire),
- intermédiaires de synthèse non isolés,
- substances destinées à la R & D (exemption de 5 ans renouvelable une fois).

Il n'y a également pas d'obligation d'enregistrement pour les substances fabriquées ou importées de moins de 1 t/an par entité juridique.

Enfin, le partage des données existantes et la création de consortium ainsi que l'utilisation de substances de substitutions contribueront à limiter le recours à l'expérimentation animale.

### b) Expertise – tests à réaliser

Pour chaque test à réaliser, REACH prévoit un arbre décisionnel qui limite le recours à l'animal de laboratoire.

Comme exemple de stratégie, le cas de l'irritation oculaire est présenté avec une application à l'acide acrylique.

La stratégie comporte neuf étapes résumées dans le tableau ci-contre :

Etapes	Information	Conclusion
1. Données physico-chimiques	<ul style="list-style-type: none"> <li>inflammable à température ambiante</li> <li>peroxyde ou hydroperoxyde organique</li> <li>pH &lt; 2 ou &gt; 11,5</li> <li>autres propriétés préoccupantes</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Aucun test requis</li> <li>Classé R36 ou R41</li> <li>Si classé R35 → R41</li> <li>A prendre en compte dans l'étape 7</li> </ul>
2. Données humaines existantes	Preuve d'une irritation oculaire	Classer ou prendre en compte dans l'étape 7
3. Etudes irritations oculaires disponibles		Classer en fonction du résultat
4. Etudes toxicité par voie cutanée disponibles	Toxique ou très toxique par voie cutanée	Classer pour sa toxicité aiguë par voie cutanée
5. Données QSAR disponibles	Informations disponibles sur structure/activité Méthode QSAR indique une irritation oculaire	Classer en fonction du résultat
6. Données <i>in vitro</i> (test validé)	<ul style="list-style-type: none"> <li>Etude recevable permettant une classification</li> <li>Etude non-conforme au standard réglementaire actuel, prouvant que la substance est irritante</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Classer en fonction du résultat</li> <li>Classer R41 ou utilisable pour étape 7</li> </ul>
7. Preuves concluantes	Données existantes suffisantes pour classer ou ne pas classer	Classer ou ne pas classer en fonction du résultat
Etapes 8 et 9 : Etudes <i>in vitro</i> ou <i>in vivo</i>		

Tableau 5 : Exemple de stratégie à mettre en œuvre pour classer une substance

En appliquant cette stratégie à l'acide acrylique, on obtient :

Etape 1 : Données physico-chimiques  
Il y a absence de dérogation  
La substance est non inflammable  
Ce n'est pas un peroxyde organique ni un hydroperoxyde  
Le pH ne suggère pas un potentiel corrosif

Etape 2 : Données humaines existantes  
Des données sont disponibles sur l'irritation cutanée sur des lieux de travail (corrosivité R35)

Etape 3 : Données existantes chez l'animal  
Les tests OCDE d'irritation oculaire et cutanée sont recevables (R34/R41)

Etape 4 : Toxicité par voie cutanée :  
Des données sont disponibles suggérant une corrosivité (R35)

Etape 5 : Données QSAR :  
Ne sont pas disponibles

Etape 6 : Données *in vitro* existantes :  
Elles sont disponibles pour la peau (tests en cours de validation)  
Indicateurs de corrosivité R34/R35

Etape 7 : Preuves concluantes :  
L'acide acrylique est classé R35 (corrosif, provoquant des brûlures graves de la peau)  
L'acide acrylique peut être classé R41 (irritant, pouvant provoquer des lésions graves de l'œil)

Il n'est pas nécessaire de réaliser les étapes 8 et 9 (études *in vitro* ou *in vivo*)

## c) Méthodes alternatives

### 1) QSAR

Une méthode QSAR se développe à partir des données d'essai.

Elle a pour avantages de limiter le recours à l'animal et d'être peu coûteuse.

Cependant, elle présente des inconvénients : il faut des résultats d'essai pour bâtir le modèle. Il faut également identifier les déterminants chimiques ou structuraux et elle ne fonctionne bien que dans des séries chimiques homogènes.

La structure chimique d'une substance peut alerter sur des dangers potentiels mais prédit plus difficilement l'intensité de la réponse.

Certaines propriétés toxicologiques des substances peuvent déjà être évaluées dans des tests *in vitro*. Par exemple :

- Corrosivité cutanée : épiderme humain reconstruit (Test CEE B.40),
- Irritation oculaire primaire : test de perméabilité-opacité de la cornée de bœuf (BCOP en cours de validation),
- HET-CAM membrane chorio-allantoïdienne, œuf (Journal officiel).

### 2) HET CAM

HET CAM = Hen's Egg Test – Chorio-Allantoic Membrane

N.P. Luepke, Brit J. *Dermatol.*, 1986, 115 suppl. 31, 133-135

*Food Chem. Toxicol.* 24, N° 67/7, 495-496, 1986

Cette méthode permet l'évaluation du potentiel irritant d'un produit par application sur la membrane chorio-allantoïdienne de l'œuf de poule.

Le principe du test consiste, sur des œufs embryonnés de poule de souche White Leghorn au dixième jour d'incubation, de retirer de la coquille sur la partie supérieure de l'œuf (côté de la poche à air) puis la membrane coquillière, de déposer le produit à évaluer sur la membrane chorio-allantoïdienne. Après 20 secondes de contact, on rince le produit avec NaCl 0,9 %.

On observe alors les réactions à l'œil nu :

- hyperhémie
- hémorragie
- coagulation

et on enregistre leur temps d'apparition durant 5 minutes.

On calcule le score moyen (sur 4 œufs, en fonction des temps d'apparition des réactions). On peut alors classer le produit (pratiquement non irritant, faiblement irritant, modérément irritant, irritant).

Ce test est un test rapide et simple à mettre en œuvre et qui permet d'obtenir un nombre important de données.

Cependant, il présente certains inconvénients dus à la difficulté relative aux lectures (finesse des réactions observées), la membrane chorio-allantoïdienne est différente des tissus de l'œil et le test est parfois trop sensible (grand nombre de faux positifs).

Ce test est passé dans la réglementation française par un arrêté du 29 novembre 1996 relatif aux méthodes officielles d'analyse nécessaires aux contrôles des produits cosmétiques (JO du 26 décembre 1996).

### 3) BCOP

BCOP = Bovine Corneal Opacity/Permeability

Gautheron P, Dukic M, Alix D, Sina JF

Bovine corneal opacity and permeability test : an *in vitro* assay of ocular irritancy

*Fundam Appl Toxicol.* 1992 Apr ; 18(3) : 442-9

Il s'agit d'un test d'irritation oculaire *in vitro* sur des cornées isolées de bovins.

Le principe du test consiste à déposer du produit à tester sur des cornées isolées de bovins.

On mesure deux paramètres :

- la variation de l'opacité des cornées avant et après l'exposition au produit,
- la comparaison de la perméabilité des cornées traitées à celle des cornées témoins.

On calcule alors un score cornéen permettant l'interprétation.

Ce test présente les avantages d'être éthique, réalisé sur un tissu complexe proche de l'œil humain, de reposer sur des données paramétrées (pas de lecture visuelle) et il donne la possibilité de faire un examen histologique (ce qui permet de détecter des faux négatifs).

Il a néanmoins des inconvénients : la cornée est différente de l'œil entier, il ne donne pas de données sur le chemosis (gonflement), la rougeur conjonctivale ou les lésions potentielles de l'iris. Il y a peu de données historiques (en comparaison avec « Draize » ou même « HET-CAM »).

Il n'existe pas encore de texte réglementaire ; une méthode similaire proposée par l'ECVAM est en cours de validation.

Aucun de ces deux tests n'est le reflet exact du test *in vivo*. Il convient donc d'associer plusieurs tests pour pouvoir évaluer le potentiel irritant de la substance.

En conclusion, REACH limite le recours à l'expérimentation animale par son champ d'application, le partage obligatoire des données sur les vertébrés et le recours impératif aux méthodes alternatives. ■

# 6

## Plate-forme nationale pour le développement des méthodes alternatives à l'expérimentation animale

*Isabelle Fabre*

*AFSSAPS Direction des laboratoires et contrôles, Montpellier*

Au cours des dix dernières années, une pression constante d'une partie de l'opinion publique vise à réduire voire abolir l'utilisation de l'animal de laboratoire utilisés à des fins scientifiques. Ceci a amené les communautés scientifiques et institutionnelles au niveau européen à mettre en place des structures ou des stratégies pour promouvoir les méthodes alternatives à l'expérimentation animale (ECVAM, PCRD).

D'un point de vue réglementaire, le 7<sup>e</sup> amendement de la directive 76/768/CE doit conduire en 2009 à l'interdiction de l'utilisation des animaux pour l'évaluation de la toxicité des produits cosmétiques et en 2013 pour les études de toxicité répétée, de reprotoxicité et de toxicogénétique. Par ailleurs le programme REACH modifie l'évaluation actuelle des produits chimiques, en particulier pour les 30 000 molécules anciennes sur le marché.

De nombreux projets sont initiés au niveau national pour répondre à ces exigences réglementaires. Pour éviter la redondance des initiatives, il est maintenant nécessaire, comme dans les autres pays européens, de mettre en place une plate-forme nationale permettant de fédérer ces projets.

Cette plate-forme française, sous forme de Groupement d'Intérêt Scientifique (GIS) intitulée "Plate-forme pour le développement des méthodes alternatives à l'expérimentation animale" serait localisée à l'AFSSAPS.

L'AFSSAPS (Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé) a été créée par la loi du 1<sup>er</sup> juillet 1998 relative au renforcement de la veille sanitaire et du contrôle de la sécurité sanitaire des produits destinés à l'homme.

Elle comporte deux organes délibérants : le Conseil d'Administration et le Conseil scientifique.

Elle s'intéresse à tous les produits destinés à l'homme : médicaments à usage humain, matières premières à usage pharmaceutique, dispositifs médicaux et dispositifs de diagnostic *in vitro*, produits sanguins labiles, organes, tissus, cellules, produits thérapeutiques annexes, produits de thérapie génique et cellulaire, produits cosmétiques, produits de tatouage et biocides.

L'agence a une mission de sécurité sanitaire pour la sécurité d'emploi, la qualité et le bon usage des produits de santé. Elle respecte des principes d'indépendance, d'expertise et de transparence avec l'appui et la participation de commission d'experts. Elle remplit des missions d'évaluation sur dossier avant et/ou après la mise sur la marché, de contrôle en laboratoire (promouvant les méthodes alternatives à l'expérimentation animale), d'inspection sur site et d'information pour le bon usage.

Au niveau européen, ont été mises en place des structures pour promouvoir le recours aux méthodes alternatives :

- L'ECVAM qui développe et valide des méthodes alternatives, gère une base de données sur les méthodes et les études, possède des groupes de travail et rédige des guides pour, notamment, la toxicologie *in vitro*.
- ECOPA qui coordonne les travaux des plates-formes nationales, élabore des projets européens dans le cadre des programmes cadres pour la recherche (PCRD) et qui travaille en collaboration avec l'ECVAM, la Commission, l'OCDE, etc.

Actuellement, il existe au sein d'ECOPA, 13 plates-formes nationales (Belgique, Danemark, Espagne, République tchèque, Italie, Suisse, Grande-Bretagne, Hongrie, Pays-Bas, Finlande, Australie, Suède, Allemagne) et 3 plates-formes associées (Norvège, Pologne, Irlande). Ces plates-formes réunissent à la fois des représentants de l'industrie, de l'université, des associations de protection animale et les ministères concernés.

Afin de faciliter l'intégration des laboratoires français (publics ou privés) au sein du réseau européen impliqués dans le développement des méthodes alternatives à l'expérimentation animale, il est proposé de mettre en place une plate-forme nationale. Cette plate-forme réunirait au sein d'un GIS, des représentants des autorités réglementaires, de la recherche académique et industrielle et des associations pour le « bien-être de l'animal ».

Elle aura pour but d'encourager les initiatives nationales, d'éviter la redondance des projets, d'établir des relations plus efficaces avec l'ECVAM et d'être le relais national d'ECOPA, ce



qui permettra une plus grande participation des équipes françaises au 7<sup>ème</sup> PCRD.

Le GIS sera composé des partenaires suivants :

- Ministère de la Recherche
- AFSSAPS pour la partie 7<sup>e</sup> amendement
- INERIS (Institut National de l'Environnement et des RISques) pour la partie REACH
- Des représentants de la recherche académique : INSERM, CNRS
- Des représentants industriels via les fédérations : FIP, UIC, LEEM
- Des représentants des associations de protection animale : OPAL et LFDA
- La SPTC (Société de Pharmaco-Toxicologie Cellulaire) coordonnera l'ensemble des partenaires

La plate-forme sera gérée par un Comité directeur composé d'un représentant par partenaire et présidé par le représentant de l'AFSSAPS. Elle sera divisée en deux sous-comités : un sous-comité "Produits de Santé" dont le secrétariat sera assuré par l'AFSSAPS et un sous-comité

"Substances chimiques" dont le secrétariat sera assuré par l'INERIS. Ils seront composés de 15 membres recrutés suite à un appel à candidature et dont les rôles seront de recenser des méthodes et des équipes et de produire des recommandations

La gestion administrative et logistique sera assurée par l'AFSSAPS pour les produits de santé et l'INERIS pour les substances chimiques.

Le GIS n'a pas de budget propre. Le support logistique sera apporté par l'AFSSAPS et l'INERIS et les participants prendront en charge leurs frais de missions.

En conclusion, la création de la plate-forme est un enjeu national pour le développement des méthodes alternatives. La capacité de promouvoir efficacement dans un cadre européen des thématiques (Méthodes *in silico* QSAR/QSPR, « Drug discovery » et développement, Nanotechnologies/Nanotoxicité) et des projets nationaux passe par la constitution d'une plate-forme constitutionnelle durable et active. ■

# 7

## REACH et l'évaluation des xénobiotiques : défis scientifique, épistémologique et éthique

*Joseph-Paul Beaufays*

*Plate-forme belge des Méthodes alternatives  
à l'expérimentation animale, Fondation Prince Laurent*

L'évaluation de la sécurité des produits chimiques est un processus dynamique et interactif, basé sur une méthodologie scientifique intégrant les dimensions épistémologique et éthique. Elle s'inscrit dans le contexte d'une demande sociétale sécuritaire de nature biopolitique et s'articule dans un cadre de pensée nourri par de nouveaux paradigmes. Parmi ces derniers, citons : une nouvelle conception holistique de l'environnement et de la sécurité de la chaîne alimentaire, la modélisation du devenir des xénobiotiques depuis leur émission dans l'environnement jusqu'à l'imprégnation des organismes vivants, le débat sur la contribution à la science du modèle animal et de ses alternatives et enfin l'émergence de nouvelles technologies pour l'étude du vivant.

Le suivi des xénobiotiques dans l'environnement et les chaînes alimentaires requiert une nouvelle approche intégrée pour établir leur traçabilité. La mise en évidence des effets de molécules sur un organisme vivant est un véritable défi posé au toxicologue. En effet, elles peuvent être présentes en faibles quantités, voire à l'état de trace, simultanément en grand nombre, et pendant une période très longue pouvant pratiquement couvrir toute l'existence d'un être vivant. Elles peuvent en outre interagir entre elles, de manière synergique ou antagoniste. La question des xénobiotiques est fondamentalement à l'origine de défis et d'enjeux multiples, de nature scientifique, épistémologique et éthique.

En effet, l'évaluation des xénobiotiques pose au moins deux défis scientifiques. Elle nécessite, tout d'abord, la confirmation de la présence d'un composé chimique dans un organisme, un tissu ou un fluide biologique, au moyen d'une méthode analytique validée. Elle se fonde ensuite sur l'analyse des effets biologiques aux concentrations mesurées et leur interprétation. A cet égard, le choix du modèle et des conditions expérimentales s'avère déterminant. Deux approches sont ici disponibles. La première est basée sur les modèles animaux plus ou moins instrumentalisés. La seconde, regroupe les alternatives. Parmi celles-ci, trois

familles émergent : les modèles basés sur les tissus humains et les cellules souches, les technologies dérivées de la génétique (génomique, protéomique, interactomique...) et les méthodes physico-chimiques et de modélisation moléculaire (QSARS...). Le recours à ces méthodes alternatives entraîne une réduction de l'expérimentation animale.

Le défi épistémologique nous amène à une réflexion fondamentale sur les concepts de toxicité même et de modèle expérimental en science. Cette discussion peut prendre comme point de départ l'analyse de la fiabilité de l'extrapolation de résultats expérimentaux d'une espèce vivante à une autre, basée sur le principe de l'unicité du vivant. Toutefois, les exceptions à cette règle doivent être investiguées. L'analyse critique des concepts de validité et de validation trouve ici toute sa pertinence. Enfin, ce débat épistémologique devrait également porter sur l'analyse comparative du réductionnisme biologique et de l'approche holistique, en vue d'intégrer la complexité du vivant dans la recherche.

Le défi éthique comporte principalement deux aspects. D'un côté, l'expérimentation sur animaux, considérés comme des êtres sensibles capables de souffrir et de ressentir la douleur et le stress, est une problématique complexe qui exige une approche rationnelle. Le programme REACH obligera d'ailleurs les industriels à partager leurs informations provenant d'essais *in vivo* afin de ne pas accroître inutilement l'expérimentation animale. D'un autre côté, le recours aux méthodes alternatives, notamment aux tissus humains et aux cellules souches, nécessite également la prise en compte de principes éthiques fondamentaux, dans le respect de la dignité de l'être humain. L'analyse des enjeux éthiques liés à ces deux paradigmes entraîne tout naturellement une discussion sur le statut de l'animal, ainsi qu'une réflexion plus générale sur la mission de la recherche au service de la société. ■

# 8

## Table ronde

animée par

**Jean-Roger Claude**

Professeur émérite de Toxicologie à l'Université Paris 5,  
Membre de l'Académie Nationale de Pharmacie

Participaient à la table ronde :

Bernard Andrieux (*Chargé de mission pour l'expérimentation animale à la Direction générale de la Recherche*),

Joseph-Paul Beaufays (*BPAM*),

Hélène Callon (*Ministère de l'Agriculture, Bureau de l'expérimentation animale*),

Isabelle Fabre (*AFSAPPS*),

François Lachapelle (*GIRCOR*).

La discussion était ouverte également aux participants du colloque.

Elle a été organisée en trois parties :

- le rapport des présentations des intervenants de la journée
- le recueil des opinions des représentants des associations pour le bien être des animaux et de la protection animale
- les types de méthodes et de stratégies à adopter pour la mise en œuvre de REACH dans un futur proche

Pour Jean-Paul Beaufays, la France n'échappera pas à un débat de fond et à une réflexion éthique. En Belgique, ont été créés des dispensaires vétérinaires et au sein de la Fondation Prince Laurent, une charte a été élaborée pour le bien être des animaux (depuis 2004, il est interdit d'utiliser des rongeurs pour la production des anticorps monoclonaux). Il y a un engagement fort pour l'acceptation des méthodes alternatives qui représentent un progrès scientifique. J. P. Beaufays est pour l'organisation de conférences d'harmonisation entre les pôles « Europe Asie Amérique ». Les méthodes alternatives représentent un gain économique et scientifique avec des retombées sur le nombre d'animaux mis en œuvre dans l'expérimentation animale car on n'est pas obligé de recommencer sans arrêt les mêmes expériences.

Jean-Roger Claude évoque les industriels qui se posent le problème de la corrélation de tel ou tel type d'étude expérimentale, des résultats et des conséquences en terme de réglementation.

Pour Bernard Andrieux, pour les questions à se poser, il y a trois volets :

⊙ celui du citoyen qui se pose des questions sur la complexité du système et sur les limites des tonnages en relation avec la dangerosité des produits pour l'évaluation du risque ;

⊙ celui de l'expérimentateur : à travers les différentes phases de l'analyse, on approche la vie, jusqu'à la biologie animale ;

⊙ enfin en tant que gestionnaire de l'expérimentation animale : on ne doit pas être dogmatique. On doit considérer que, à travers l'expérimentation, il y a une continuité et ce qui compte c'est l'Homme, avec sa responsabilité et son éthique (Comité national d'Éthique).

Hélène Callon signale qu'à l'occasion de la révision de la Directive 86/609/CEE, la Commission européenne a présenté des mesures pour la promotion des méthodes alternatives, en avril 2006, avec la prise en compte du bien être animal.

Isabelle Fabre pense que REACH nécessite une réflexion mondiale car les grands pollueurs ne sont pas européens.

J.R. Claude appuie cette idée car, selon lui, il faut en effet, une internationalisation pour réaliser les méthodes alternatives les plus performantes. Aux États-Unis, les expérimentateurs ont de bons résultats car les chercheurs travaillent sur des modèles *in vitro* exceptionnels.

François Lachapelle, spécialiste de la recherche académique fondamentale, considère que l'impact de REACH sur les méthodes alternatives est insuffisant. Il faut utiliser des méthodes non invasives chez l'animal, réduire l'expérimentation animale et l'optimiser.

Jean-Luc Delongas (Laboratoire SERVIER) souligne que l'on manque d'experts toxicologiques et se demande comment l'Agence européenne des produits chimiques pourra faire fonctionner ses comités d'experts.

J.R. Claude indique que les agences ont des experts internes mais qu'elles sont souvent obligées de faire travailler des experts extérieurs et que cela a un coût.

Henri Maurin-Blanchet demande si on peut savoir quel sera le nombre d'animaux utilisés, sachant que le critère retenu pour les essais à réaliser est le tonnage des substances utilisées.

Hélène Dutertre pose la question de l'utilité de toutes ces substances.

J.R. Claude lui répond que 10 à 15 % de ces substances disparaîtront, compte tenu des coûts d'expertise et des quantités de substances circulant en Europe car l'argument sera économique. Un autre problème est celui des données et des références qui vieillissent.

H. Callon indique que la grande préoccupation des associations de protection animale est de savoir si oui ou non l'animal disparaîtra complètement des expérimentations et que c'est ce qu'elles souhaitent.

F. Lachapelle rappelle que le GIRCOR a diligenté une enquête d'opinion il y deux ans : plus de 80 % des personnes interrogées étaient favorables à l'expérimentation animale pour les médicaments, mais y étaient moins favorables pour les études de sécurité. La grande préoccupation est la diminution de la pertinence de l'utilisation de l'animal dans les études de sécurité en cosmétologie, phytopharmacie. Mais il y a un paradoxe évident : d'une part la peur des produits chimiques et d'autre part la légitimité de l'utilisation de l'animal dans ces études.

Pour J. P. Beaufays, les questions de sémantique sont importantes. Doit-on parler de méthodes alternatives ou de méthodes substitutives ?

J.R. Claude lui répond que dans les « guidelines » on parle de méthodes alternatives.

Jean-Claude Laurent, consultant, rappelle que la législation REACH prévoit le contrôle de 30 000 substances d'ici 2018, substances potentiellement dangereuses pour l'homme qui seront enregistrées auprès de l'Agence européenne des produits chimiques à Helsinki. L'expérimentation animale restera indispensable. D'après les études bibliographiques, l'industrie pharmaceutique fait à la fois des études *in vitro* et *in vivo*, notamment pour les études de métabolisme de médicaments et de pharmacocinétique (ADME).

J.R. Claude confirme que les industries pharmaceutiques font d'abord le screening *in vitro* pour les pré-requis puis passent aux études sur l'animal puis chez l'homme et reviennent à l'animal pour ces études du métabolisme du médicament (ADME). On peut se poser une question : sur les 30 000 substances quelles seront les molécules qui relèveront de l'expérimentation animale ?

Selon J.P. Beaufays, la durée des expérimentations nécessitées par REACH sera très longue (20 à 40 ans !) et ceci dans toute l'Union européenne. Les études de toxicité vont exploser.

D'après Jean-François Régnier, toxicologue, les méthodes alternatives donnent souvent des résultats difficiles à interpréter (faux négatifs ou faux

positifs). Par conséquent, les études toxicologiques sur l'animal resteront nécessaires.

De plus, J.R. Claude précise que sur les 30 000 substances, il y aura nécessairement des expériences complémentaires indispensables qui n'étaient pas planifiées au départ dans les protocoles. La façon de poser la question oriente les réponses ; la compassion pour les animaux utilisés est forte pour le singe (scandinaves, lobbies anglo-saxons) et le chien mais moins pour les rongeurs. Dans certains domaines, comme l'imagerie médicale, on ne peut se passer d'utiliser l'animal (Pet scan). Aux États-Unis, on utilise environ 45 000 primates par an, en Europe 10 000 dont 3 500 en France. Les méthodes d'imagerie doivent être perfectionnées chez l'animal tout en respectant l'éthique de la recherche.

Pour J.P. Beaufays et J.R. Claude, les méthodes alternatives de demain doivent être validées. Il y a des difficultés techniques de mise en œuvre et d'interprétation. Par exemple, les études génomiques ne sont pas quantitatives. Elles sont très onéreuses pour avoir des résultats statistiquement significatifs (transcriptomie) : problèmes de sur ou sous expression des gènes. Beaucoup de laboratoires ont des banques de données internes (problèmes de sous-traitance).

Pour conclure cette table ronde, les intervenants insistent sur la nécessité de confronter les expériences interdisciplinaires, de ne pas sous estimer la volonté de protection de l'animal et de développer les méthodes alternatives, en coordonnant les protocoles sur le plan européen. ■