RECOMMANDATION DU CONSEIL

du 26 octobre 1983

concernant les essais en vue de la mise sur le marché des spécialités pharmaceutiques

(83/571/CEE)

LE CONSEIL DES COMMUNAUTÉS EUROPÉENNES,

vu le traité instituant la Communauté économique européenne, et notamment son article 235,

vu la proposition de la Commission,

vu l'avis de l'Assemblée (1),

vu l'avis du Comité économique et social (2),

considérant que la directive 65/65/CEE (3) a entamé le rapprochement des dispositions législatives, réglementaires et administratives relatives aux spécialités pharmaceutiques des États membres et que les directives 75/318/CEE (4) et 75/319/CEE (5) ont poursuivi ce rapprochement et ont développé les principes posés par la directive 65/65/CEE;

considérant notamment que la directive 75/318/CEE fournit un cadre général pour l'expérimentation des spécialités pharmaceutiques, énumère les divers types d'essais à effectuer et précise certains principes pour l'instruction des demandes d'autorisation de mise sur le marché;

considérant que l'expérience a montré que la conduite et le contenu des essais doivent être davantage précisés, de façon à permettre une application identique des directives communautaires lors de la conduite des essais et lors de l'examen des demandes par les autorités nationales;

considérant que des notes explicatives sont par conséquent nécessaires pour prévenir les divergences d'appréciation dans l'application des normes et protocoles visés par la directive 75/318/CEE; qu'elles contribueront à favoriser la libre circulation des spécialités pharmaceutiques;

considérant que les essais destinés à évaluer la qualité, la sécurité et l'efficacité des spécialités pharmaceutiques doivent être constamment adaptés à l'état des connaissances scientifiques et techniques sans entraîner cependant un gaspillage des ressources ni une utilisation des animaux de laboratoire au-delà du strict nécessaire;

considérant qu'il est donc hautement souhaitable que, d'une part, les notes explicatives soient périodiquement révisées pour tenir compte de l'état de la technique et que, d'autre part, de nouvelles notes explicatives soient élaborées selon les priorités qui s'imposent, en accord avec les autorités nationales;

considérant qu'un tel progrès dans l'harmonisation, nécessaire au plan communautaire, favorisera également la reconnaissance, au plan international, des essais de médicaments entrepris selon ces notes, et tendra ainsi à éviter la répétition des expérimentations en vue de l'exportation vers les pays tiers;

considérant que le comité pharmaceutique et le comité des spécialités pharmaceutiques ont été consultés sur les mesures faisant l'objet de la présente recommandation,

RECOMMANDE AUX ÉTATS MEMBRES:

1. de veiller à ce que les demandeurs d'autorisations de mise sur le marché de spécialités pharmaceutiques respectent, au cours des essais et dans la présentation des résultats, les principes et la méthodologie des notes explicatives figurant aux annexes;

2. d'instruire et d'évaluer, conformément à ces notes explicatives, les demandes d'autorisation de mise sur le marché.

Fait à Luxembourg, le 26 octobre 1983.

Par le Conseil

Le président

G. MORAITIS

(1) JO n° C 287 du 9. 11. 1981, p. 127.
(2) JO n° C 189 du 30. 7. 1981, p. 39.
(3) JO n° 22 du 9. 2. 1965, p. 369/65.
(4) JO n° L 147 du 9. 6. 1975, p. 1.
(5) JO n° L 147 du 9. 6. 1975, p. 13.

ANNEXE I

TOXICITÉ PAR ADMINISTRATION RÉITÉRÉE

Note explicative pour l'application de l'annexe de la directive 75/318/CEE, deuxième partie chapitre 1er lettre B point 2, en vue de l'autorisation de mise sur le marché d'un nouveau médicament

1. INTRODUCTION

Le but de ces études est l'obtention d'informations relatives à la toxicité d'un produit dans les cas où une exposition réitérée à ce médicament est envisagée, de manière à permettre l'évaluation des risques résultant de son administration thérapeutique, compte tenu des produits de biotransformation.

La durée de ces études sera fonction de l'utilisation préconisée chez l'être humain ou de la durée prévue d'exposition humaine. Les périodes suivantes d'administration sont proposées à titre d'orientation pour mettre en corrélation la durée des études de toxicité chronique avec la durée envisagée de l'exposition au médicament chez l'homme.

Durée envisagée du traitement	*Durée proposée des essais de toxicité par administration réitérée*
Une ou plusieurs administrations en 1 seul jour	2 semaines
Administration réitérée jusqu'à 7 jours	4 semaines
Administration réitérée jusqu'à 30 jours	3 mois
Administration réitérée au-delà de 30 jours	6 mois

S'il est probable que la durée d'exposition de la substance chez l'homme doit être plus longue, par exemple dans les cas où une administration discontinue fréquemment répétée se traduit par une période totale d'exposition d'un mois ou plus au cours d'une période d'une année, ou quand la rétention dans l'organisme d'une dose unique du médicament est prolongée, la durée de l'essai de toxicité chronique sera de six mois.

S'il s'avère nécessaire de procéder à des essais de toxicité d'un durée de trois ou six mois, il conviendrait de prévoir un essai de toxicité subaiguë d'une durée de deux ou quatre semaines, dans le but d'établir la gamme des doses utiles en vue de l'étude à long terme (voir point 2.5).

En effet, l'administration d'une dose trop élevée ne laisserait subsister que trop peu d'animaux vivants à l'issue de l'étude de trois mois ou plus; l'administration d'une dose trop faible empêcherait la survenue d'altérations toxiques.

1.1. Spécifications générales concernant l'étude de toxicité par administration réitérée

Dans l'annexe de la directive 75/318/CEE, il est précisé, à la deuxième partie concernant les essais toxicologiques et pharmacologiques, que ces expériences devraient indiquer notamment les seuils de toxicité: «Les épreuves de toxicité par administration réitérée ont pour objet de mettre en évidence les altérations fonctionnelles et/ou anatomo-pathologiques consécutives aux administrations répétées de la substance active ou de l'association des substances actives et d'établir les conditions de l'apparition de ces altérations en fonction de la posologie.

D'une façon générale, il est souhaitable de réaliser deux épreuves: l'une à court terme d'une durée de deux à quatre semaines, l'autre à long terme, dont la durée dépend des conditions d'application clinique. Cette dernière épreuve a pour but de vérifier les limites d'innocuité expérimentale du produit examiné.»

Comme ces limites ne peuvent être déterminées qu'une fois qu'elles ont été dépassées, l'étude de toxicité par administration réitérée devra être conçue de façon à déceler les signes de toxicité. Cela signifie que:

1.1.1. Du point de vue du métabolisme et de la pharmacocinétique du médicament, il est souhaitable que les espèces vivantes choisies pour les études à long terme à réaliser avant la commercialisation du produit soient aussi proches de l'être humain que possible dans la gamme habituelle d'animaux de laboratoire normalement utilisés pour les essais de toxicité par administration réitérée. S'il y a des différences significatives dans le métabolisme, elles devront être prises en compte lors de l'évaluation des résultats.

1.1.2. Il est souhaitable que les organes cibles pharmacologiques et les effets pharmacologiques du produit dans l'espèce utilisée soient les mêmes que ceux qui sont impliqués dans l'effet thérapeutique envisagé pour l'homme, pour autant que ceci soit connu et réalisable.

1.1.3. Le dosage, la voie et la fréquence d'administration devraient être choisis de manière à favoriser dans l'organisme animal l'obtention d'une charge suffisante de produit et de ses métabolites pour mettre en évidence les organes cibles correspondant aux effets secondaires nocifs. Dans l'élaboration du protocole, il sera tenu compte de la pharmacocinétique du médicament.

Lors de l'administration continue d'un médicament, à des doses suffisamment élevées, les étapes principales pourraient être les suivantes:

a) le médicament s'accumule dans l'organisme jusqu'à atteindre un état stationnaire;

b) l'adaptation de l'organisme à l'accumulation du médicament, au niveau des organes cibles pharmacologiques, ou des enzymes de biotransformation, ou encore des mécanismes d'excrétion;

c) dans certains cas, une seconde voie métabolique peut être activée par suite d'une surcharge de la voie métabolique primaire de détoxication; il peut en résulter la formation d'un nouveau métabolite toxique;

d) phase d'apparition de la toxicité au niveau de l'organe cible, qui se manifeste par une défaillance des fonctions physiologiques et, en dernier lieu, par des altérations pathologiques.

L'administration du produit dans le cadre d'une étude de toxicité par administration réitérée devrait être suffisante, du point de vue du dosage et de la durée, pour atteindre l'étape finale visée sous d), de sorte que l'on pourra évaluer le type de toxicité engendré par l'administration d'une dose excessive, ainsi que le multiple de la dose thérapeutique produisant une toxicité. Dans la pratique, tous les médicaments ne peuvent être administrés à des doses susceptibles de produire une toxicité au niveau de l'organe cible. Dans ce cas, la preuve devra être fournie que la dose administrée est la dose la plus élevée possible et que le médicament a été résorbé systémiquement.

2. SPÉCIFICATIONS CONCERNANT LE MÉDICAMENT ET SON ADMINISTRATION

2.1. Qualité du médicament

Le principe actif devrait, autant que possible, présenter le même spectre d'impuretés que le produit à mettre sur le marché. Si, dans la forme d'administration définitive, la substance médicamenteuse devait présenter des impuretés significativement différentes en quantité et en qualité de celles du lot testé, d'autres dispositions devront alors être prises pour vérifier leur toxicité éventuelle. Si le médicament est administré par voie orale, ses caractéristiques physiques, telles que la dimension des particules, pourront présenter de l'importance; c'est la raison pour laquelle les propriétés physiques et la stabilité de la substance utilisée dans les essais de toxicité par administration réitérée devront être précisées dans chaque cas. Toutes les fois que, dans un essai de toxicité de ce genre, l'on utilise plus d'un lot de substance active, il conviendrait de le préciser et d'identifier chaque lot. Le ou les lots utilisés dans les études de toxicité par administration réitérée ne devront pas être d'un degré de pureté plus élevé que ceux qui sont destinés au produit final. Lorsque le médicament est administré dans la ration alimentaire ou dans l'eau de boisson, il convient d'établir qu'il reste stable dans ce milieu.

Un nouvel excipient utilisé pour la première fois devrait être essayé selon les mêmes critères qu'une nouvelle substance active.

2.2. Durée de l'administration

La durée de ces études devra être fonction de la durée de l'utilisation thérapeutique proposée chez l'être humain (voir point 1).

2.3. **Voie d'administration**

Chaque fois que cela est techniquement réalisable, le produit sera administré par la voie prévue pour l'homme et il est souhaitable que l'effet pharmacologique soit démontré par cette voie. Faute de quoi, l'utilisation d'autres voies devrait être prise en considération. L'administration par inhalation est étudiée en appendice. La quantité de médicament absorbée à partir du site d'administration proposé devra être connue d'après des études pharmacocinétiques. Lorsque le produit est incorporé à l'alimentation ou associé à l'eau de boisson, le demandeur doit démontrer qu'une quantité raisonnable et bien connue du médicament est effectivement absorbée. En cas d'incorporation de la substance étudiée dans l'alimentation ou dans l'eau de boisson, il est nécessaire de procéder à un ajustement régulier de la quantité de médicament contenue dans l'alimentation ou l'eau de boisson pour réaliser les compensations nécessaires en fonction de la croissance et des changements de la consommation alimentaire.

Outre la toxicité générale, la possibilité d'une toxicité locale au site même de l'application devra faire l'objet d'une grande attention par exemple dans le cas de l'application sur la peau, l'administration intravaginale, intraveineuse, intramusculaire, rectale, sous-cutanée, intra-articulaire, intrarachidienne, conjonctivale, intranasale et auriculaire, ou lorsque le médicament est administré par inhalation.

2.4. **Fréquence d'administration**

La charge de l'organisme en certains produits ne parvient à un état stationnaire que lorsqu'ils sont administrés pendant les sept jours de la semaine. Normalement l'administration d'un médicament aux animaux devra être effectuée sur cette base. Si cela n'est pas possible, il conviendra d'en donner la raison. Lorsque la vitesse d'élimination est lente, une administration moins fréquente peut être acceptable. Une vitesse d'élimination rapide ou une intolérance gastrique pourra obliger à administrer les produits plus d'une fois par jour.

2.5. **Niveaux de dose**

Le traitement devra comprendre:

a) une dose forte, choisie pour provoquer la toxicité au niveau de l'organe cible chaque fois que possible ou, à défaut, pour provoquer une toxicité non spécifique ou pour atteindre la limite imposée par le volume d'administration.

   Dans le cas d'une étude de toxicité d'une durée de trois ou six mois, il sera nécessaire de déterminer cette dose à partir d'un essai de toxicité subaiguë d'une durée de deux ou quatre semaines, programmé et réalisé de manière à déterminer la gamme des doses;

b) une dose faible, suffisante pour provoquer un effet pharmacodynamique ou l'effet thérapeutique souhaité, ou pour produire des taux sanguins comparables à ceux qui, selon les prévisions, devraient produire ces effets chez l'homme;

c) une dose intermédiaire, telle que la moyenne géométrique entre la dose élevée et la dose faible;

d) l'essai devra inclure un ou plusieurs lots témoins appropriés; dans certains cas, un lot témoin positif peut être nécessaire.

Cependant, les remarques ci-dessus ne sont pas applicables lorsque l'effet pharmacodynamique est lui-même responsable de la toxicité; l'hypoglycémie provoquée par l'administration d'agents antidiabétiques en est un exemple.

L'expérimentateur devra indiquer les raisons qui l'ont amené à choisir ces niveaux de dose.

2.6. **Promédicaments**

Lorsque le produit administré est constitué par un promédicament, sa transformation en médicament actif devra être démontrée sur l'espèce utilisée dans l'étude.

3. SPÉCIFICATIONS CONCERNANT L'ANIMAL D'EXPÉRIENCE

3.1. Espèces animales: choix et caractérisation

Les espèces animales devront, autant que possible, être choisies sur la base de leur ressemblance avec l'être humain, sous l'angle de la pharmacocinétique, y compris la biotransformation du produit (voir point 1.1.1).

L'effet pharmacodynamique du médicament devra si possible être mis en évidence au moins sur une espèce animale, de manière à fournir l'information nécessaire au sujet de la marge qui existe entre l'effet thérapeutique et l'effet toxique. L'expérimentateur devra justifier le choix de l'espèce et de la souche. L'utilisation d'animaux SPF devrait normalement accroître la valeur de l'étude.

3.2. Sexe

Normalement, on devrait avoir recours à un nombre égal d'animaux mâles et d'animaux femelles.

3.3. Dimension des lots traités

En fixant la dimension des lots traités, il importe de prendre en considération les éléments suivants.

a) La dimension des lots traités doit être suffisante pour faire apparaître tous les effets toxicologiques importants dus au traitement.

b) La dimension des lots traités doit être suffisante pour permettre le sacrifice des animaux à des intervalles donnés avant la fin de l'essai sans interférer pour autant avec l'analyse statistique finale.

c) La dimension des lots traités doit être suffisante pour permettre de retenir un certain nombre d'animaux à la fin de la période d'administration, de façon à pouvoir évaluer la réversibilité des modifications de l'action toxique à la fin du traitement.

d) Les connaissances de base sur les séries de variables à étudier chez les espèces et les souches utilisées sont également intéressantes pour la détermination de la dimension des lots.

Toutefois, la dimension des lots témoins et des lots traités sera toujours limitée par des facteurs pratiques et financiers ainsi que par des considérations humanitaires.

3.4. Nombre d'espèces

Le but des études de toxicité par administration réitérée est d'élaborer un modèle animal pour l'administration réitérée de la substance chez l'homme. La valeur du modèle, pour son extrapolation à l'homme, dépend dans une grande mesure de la ressemblance qualitative entre le modèle animal et l'homme; généralement, cette ressemblance n'est pas connue. Pour réduire tout risque d'erreur dans l'extrapolation en liaison avec les effets ou l'absence d'effets qui sont propres à telle ou telle espèce, l'expérimentateur devrait avoir recours au moins à deux espèces, l'une d'elles n'appartenant pas à l'ordre des rongeurs. Le choix des espèces devrait être justifié (voir point 1.1.1).

4. CONDITIONS D'HÉBERGEMENT DES ANIMAUX

Les conditions d'hébergement des animaux doivent être de haute qualité et les conditions du milieu seront contrôlées; leur alimentation doit avoir une composition constante parfaitement connue. Les mesures prises pour obtenir ces conditions doivent être décrites dans le rapport.

5. OBSERVATIONS

5.1. Valeurs avant traitement et valeurs témoins

Des valeurs témoins relatives à la colonie sont nécessaires pour les petits mammifères et ce pour toutes les variables morphologiques, biochimiques et physiologiques. Dans le cas des animaux de plus grande taille, ces valeurs, avant traitement, doivent être obtenues chez les animaux utilisés pour l'étude.

5.2. **Surveillance en cours d'étude**

5.2.1. *Surveillance générale*

Une surveillance générale sera effectuée tout au long de l'étude et elle devrait porter sur les points suivants: consommation alimentaire, poids du corps, hématologie, chimie clinique, analyse des urines, ophtalmologie, électrocardiogramme et comportement général. La sélection des techniques employées et le choix des autres tests devraient tenir compte de l'état actuel des connaissances et de l'espèce animale utilisée. Dans le cas des rongeurs, si l'électrocardiogramme et l'examen ophtalmologique, ou d'autres examens spécifiques, sont requis, il suffirait que ceux-ci ne portent que sur un nombre limité d'animaux à chaque niveau de dose.

5.2.2. *Fréquence de la surveillance*

La fréquence des examens, en dehors de la phase avant traitement et de la surveillance finale, devra être fonction des manifestations de la toxicité ainsi que de la pharmacocinétique du médicament.

Les examens (y compris la collecte des échantillons sanguins) réalisés au cours de la surveillance devraient également porter sur les témoins et ils ne devraient pas affecter les animaux d'expérience de manière telle que l'interprétation finale des résultats de l'essai de toxicité puisse en être affectée.

5.2.3. *Consommation de nourriture*

Lorsque les produits sont administrés dans la nourriture, une attention particulière devrait être consacrée à l'effet du produit sur la consommation des aliments. Il convient également de tenir compte des effets résultants sur la prise médicamenteuse.

5.3. **Surveillance finale**

Les observations finales devront être aussi complètes que possible. Une autopsie devra être pratiquée sur tous les animaux. L'histopathologie devra être effectuée, sur les lots à haute dose et les lots témoins, sur tous les organes et tous les tissus énumérés dans l'appendice. Chez les rongeurs, l'examen des lots ayant reçu les doses plus faibles peut être limité aux organes et aux tissus présentant des altérations pathologiques à l'autopsie. Pour les autres espèces, lorsque de petits nombres d'animaux sont utilisés, l'histopathologie des tissus énumérés devra être pratiquée sur tous les animaux à toutes les doses.

Si les organes n'ont pas fait l'objet d'un examen microscopique, des inclusions en cire ou des coupes devront être préparées et conservées pendant une durée de cinq années à partir de la date de commercialisation, aux fins d'examen éventuel. Les particularités rencontrées dans la distribution du médicament pourront nécessiter des études histopathologiques complémentaires.

6. IMMUNO-INTERFÉRENCE

Le développement considérable de l'immunologie et la reconnaissance de son importance nous obligent à prêter attention à l'interférence des médicaments avec le système immunologique, même si cette interférence ne relève pas de leur activité prévue. Une telle interférence peut occasionner des effets secondaires indésirables (interférence avec l'infection, carcinome). Il est donc particulièrement important, à l'issue de l'étude de toxicité, de soumettre à un examen macroscopique et microscopique la rate, le thymus et certains ganglions lymphatiques. Ces examens devront mettre en évidence tous effets des médicaments sur le système immunitaire et donc indiquer s'il est nécessaire de procéder à des essais complémentaires.

Nos connaissances actuelles dans ce domaine étant en progression rapide, les essais mis en œuvre pour vérifier les effets immunologiques d'un médicament devront tenir compte de l'état d'avancement des connaissances scientifiques au moment considéré.

7. CONCLUSIONS

L'expérimentateur devra tirer les conclusions de ces études.

Appendice A

Liste des tissus qui doivent faire l'objet d'un examen histologique dans le cadre d'une étude de toxicité par administration réitérée

— Lésions macroscopiques

— Masses tissulaires ou tumeurs (y compris les ganglions régionaux lymphatiques)

— Frottis sanguin (en cas d'anémie, d'hypertrophie du thymus, de lymphadénopathie)

— Chaîne ganglionnaire

— Glandes mammaires

— Glandes salivaires

— Sternum, fémur ou vertèbres (y compris la moelle osseuse)

— Hypophyse

— Thymus

— Trachée

— Poumons

— Cœur

— Thyroïde

— Œsophage

— Estomac

— Intestin grêle (méthode du «rouleau suisse»)

— Côlon

— Foie

— Vésicule biliaire

— Pancréas

— Rate

— Reins

— Surrénales

— Vessie

— Prostate

— Testicules

— Ovaires

— Utérus

— Encéphale (sections horizontales sur trois niveaux)

— Yeux

— Moelle épinière

Appendice B

Mise en œuvre des essais de toxicité par inhalation

1. AVANT-PROPOS

Les produits médicamenteux destinés à être administrés aux êtres humains par inhalation peuvent être soit des aérosols contenant, à l'état liquide ou solide, la substance active sur le plan pharmocologique, soit des vapeurs ou des gaz. Ces derniers produits sont utilisés sous forme d'anesthésiques inhalés, tandis que les aérosols en général contiennent une substance médicamenteuse se présentant sous la forme de particules émises par un gaz propulseur qui, en principe, doit être biologiquement inactif.

Les essais de toxicité réalisés par inhalation sont nécessaires dans les cas où:

a) la pharmacocinétique, après administration par inhalation, peut différer qualitativement ou quantitativement du modèle que l'on peut observer après administration du produit par d'autres voies,

ou

b) le médicament et le gaz propulseur peuvent interagir dans l'organisme,

ou

c) le produit inhalé peut exercer un effet local dans les voies respiratoires, cet effet pouvant être soit un effet à court terme (effet sur la fonction ciliaire ou autres signes d'irritation locale), soit un effet à long terme (emphysème, bronchite, affection maligne).

Les aérosols sont utilisés pour l'administration de médicaments soit (i) pour obtenir un effet local dans le système respiratoire, ou (ii) afin d'obtenir des effets systémiques en utilisant la muqueuse des voies respiratoires pour l'absorption du composé actif, ou (iii) pour éviter l'altération des médicaments dans le tractus gastro-intestinal.

Dans certains cas, les études toxicologiques du médicament peuvent avoir été réalisées en recourant à d'autres voies d'administration, de sorte qu'une étude toxicologique très poussée intéressant d'autres voies d'administration peut déjà avoir été effectuée au moment où les études d'inhalation sont envisagées. Dans d'autres cas, par exemple lorsqu'il s'agit de composés exerçant une action locale, tels que les agents mucolytiques, l'étude toxicologique utilisant d'autres voies d'administration peut être sans objet ou d'une utilité très relative. Tout programme d'étude toxicologique par inhalation devrait tenir compte des connaissances toxicologiques ou pharmacologiques déjà existantes sur le produit concerné.

2. PROPRIÉTÉS PHYSICO-CHIMIQUES

Les informations sur les propriétés physico-chimiques de la substance active doivent être communiquées de la même manière que pour n'importe quelle autre étude toxicologique. Les autres informations à fournir portent sur les caractéristiques de l'aérosol, en particulier sur la distribution de la taille des particules ou des gouttelettes de la substance active et les spécifications physico-chimiques de la substance ou des substances utilisées comme gaz propulseur.

Le système pulseur utilisé dans ces études devra être le même que celui qui est prévu pour le produit final. En cas d'utilisation d'un nouveau système pulseur, celui-ci devra être étudié comme s'il s'agissait d'une nouvelle substance active.

3. PROGRAMME D'ADMINISTRATION

3.1. **Administration**

La méthode d'administration dépend de la nature de la substance et de l'utilisation prévue chez l'homme. Pour les études de toxicité aiguë, il convient d'administrer la substance directement dans les voies respiratoires par l'intermédiaire d'un tube naso-trachéal ou par trachéotomie. Ainsi, la quantité administrée peut être déterminée directement.

Dans le cas des études avec exposition de longue durée, il sera nécessaire, en règle générale, d'utiliser des chambres d'exposition «tête seulement» ou «nez seulement» ou des masques d'inhalation. En cas d'exposition du corps entier, le dépôt de substances sur la peau, dans la

fourrure, dans les voies respiratoires supérieures ainsi que les quantités ingurgitées devront être prises en considération pour fixer la dose de substance à administrer.

Il convient de démontrer que la méthode d'administration permet à la substance d'atteindre le site voulu.

3.2. **Niveau d'administration**

Trois niveaux de dose et un ou plusieurs lots témoins, selon le cas, devront normalement être utilisés pour les études d'administration unique et réitérée. On peut obtenir différents niveaux d'exposition aux médicaments en modifiant la concentration de la substance inhalée ou en modifiant la durée de l'exposition. Lors de la sélection du niveau de dose, on devra, autant que possible, appliquer les mêmes principes que ceux qui ont été utilisés pour les études de toxicité par d'autres voies d'administration.

Les raisons qui ont présidé aux choix des différents niveaux de doses devraient être indiquées.

3.3. **Durée de l'étude**

Pour la durée de l'étude, on devra tenir compte, du moins dans une certaine mesure, de l'exposition à laquelle l'être humain devrait être soumis.

4. PHARMACOCINÉTIQUE ET MÉTABOLISME

Le schéma métabolique du médicament administré par inhalation peut différer du schéma observé lorsque d'autres voies d'administration ont été choisies. Le chercheur devra déterminer s'il existe des différences pharmacocinétiques ou métaboliques pertinentes pour l'interprétation des études toxicologiques réalisées par voie d'inhalation.

Si une biotransformation survient dans le poumon lui-même, la possibilité d'une induction enzymatique de ce processus devrait être prise en considération.

5. ANIMAUX

Les animaux d'expérience utilisés dans ces études devront être exempts d'infection pulmonaire et peu sujets aux risques d'autres maladies pulmonaires.

Le nombre d'animaux d'expérience à utiliser dans chaque lot devra être choisi en tenant compte des nécessités de l'analyse statistique, de la durée de l'expérience et du nombre d'observations, de mesures et d'intermédiaires sacrifices à réaliser pendant la période d'exposition. Parmi les espèces à utiliser pour toutes les études par administration réitérée, on choisira au moins un rongeur et un non-rongeur.

6. OBSERVATIONS

Les contrôles intermédiaires et les études finales seront réalisés de la manière indiquée pour les autres études de toxicité. Il conviendra d'accorder une attention particulière à tous les effets locaux. Si le médicament doit être administré de façon réitérée, des études spéciales de la fonction ciliaire et de la microflore pourront s'avérer nécessaires.

La surveillance des taux sanguins du médicament et du gaz propulseur, ou toute autre méthode d'évaluation de l'absorption du médicament et du gaz propulseur, devront être réalisées à intervalles réguliers à l'occasion des essais d'administration réitérée.

Examen final

À l'issue de l'étude, tous les animaux seront soumis à une autopsie et l'examen de leurs tissus sera réalisé comme dans le cas des autres études toxicologiques.

Dans les études réalisées par inhalation, les poumons de tous les animaux devront être pesés et des tissus prélevés à tous les niveaux exposés du tractus respiratoire et du tissu lymphoïde associé devront faire l'objet d'un examen histopathologique.

7. PRÉSENTATION DES RÉSULTATS ET CONCLUSIONS

Les résultats devront être présentés de la même manière que dans les autres études de toxicité et l'expérimentateur devra tirer des conclusions appropriées de l'étude qu'il a effectuée.

ANNEXE II

ÉTUDES DE LA REPRODUCTION

Note explicative pour l'application de l'annexe de la directive 75/318/CEE, deuxième partie, chapitre 1er lettres C et D, en vue de l'autorisation de mise sur le marché d'un nouveau médicament

GÉNÉRALITÉS

L'étude des effets sur la fonction de reproduction sera conduite sur tous les nouveaux médicaments de façon à mettre en évidence tout effet sur le comportement d'accouplement ainsi que tout effet susceptible d'entraîner la perte de fœtus ou des anomalies fœtales ou d'altérer plus tardivement la descendance, tel que:

i) modification de la fertilité ou de la mise bas de petits anormaux en raison d'altérations des gamètes mâles et/ou femelles,
ii) interférence avec le développement de l'œuf fécondé aux stades de la préimplantation et de l'implantation,
iii) effets toxiques sur l'embryon,
iv) effets toxiques sur le fœtus,
v) modification de la physiologie maternelle entraînant des effets secondaires sur l'embryon ou le fœtus,
vi) effets sur la croissance utérine ou placentaire ou sur le développement,
vii) interférence avec la parturition,
viii) effets sur le développement postnatal et l'allaitement de la progéniture et sur la lactation maternelle,
ix) effets tardifs sur la progéniture.

RECOMMANDATIONS SPÉCIFIQUES

Dans leur interprétation ces notes explicatives ne doivent pas être considérées comme des exigences rigides et peuvent ne pas être systématiquement applicables. Leur interprétation devra donc être souple et adaptée à l'utilisation proposée du médicament. Il est nécessaire de justifier le choix des études.

1. CHOIX DES ESPÈCES

Les études d'embryotoxicité seront normalement effectuées sur deux espèces de mammifères dont l'une n'appartenant pas à l'ordre des rongeurs. Les études de fertilité et de périnatalité seront effectuées sur une espèce au moins. Si l'on sait que le métabolisme d'un médicament chez une espèce déterminée ressemble à son métabolisme chez l'homme, il est souhaitable d'utiliser cette espèce. Il est souhaitable que l'une des espèces choisies soit la même que pour les études de toxicité à long terme. Des études sur une troisième espèce pourront être utiles si les résultats obtenus sur les deux espèces initialement choisies sont contradictoires. Il convient de préciser les espèces et les souches utilisées dans ces études.

2. ADMINISTRATION

Le médicament sera normalement administré à trois niveaux de dose. La plus forte dose devrait habituellement permettre de mettre en évidence une certaine toxicité chez la mère, par exemple une diminution du gain de poids. La plus faible dose doit être suffisante pour produire un effet pharmacodynamique semblable à l'effet thérapeutique recherché ou pour assurer des taux sanguins comparables à ceux qui sont nécessaires pour produire l'effet (cette recommandation ne s'applique pas si l'effet pharmacodynamique est en lui-même cause de toxicité). La dose intermédiaire sera la moyenne géométrique des doses forte et faible.

L'administration se fera par la ou les voies prévues pour l'administration clinique.

Les programmes d'étude des effets des médicaments sur la fonction de reproduction comporteront en principe:

a) des études d'embryotoxicité; l'administration se fera à deux espèces, dont l'une n'appartenant pas à l'ordre des rongeurs, pendant toute la durée de l'embryogenèse (organogenèse);

b) une étude de fertilité (sur au moins une espèce); on commencera l'administration à des animaux mâles et femelles suffisamment longtemps avant l'accouplement pour que tous effets du médicament sur la gamétogenèse puissent être décelés. Les animaux traités peuvent être accouplés avec des partenaires traités, mais en cas de résultat positif en ce qui concerne un défaut de reproduction, l'étude doit être recommencée à l'aide d'animaux traités accouplés à des partenaires non traités. Après accouplement, les femelles traitées continueront à être traitées pendant toute la gestation.

   La moitié des femelles seront sacrifiées durant la gestation, de préférence quelques jours avant la date présumée de la parturition, et les fœtus seront prélevés par césarienne et examinés. On laissera les femelles restantes mettre bas normalement et élever leurs petits;

c) sur une espèce au moins, des études périnatales; le traitement devra couvrir toute la période de gestation qui s'étend de la fin de l'organogenèse jusqu'à la mise bas et la période d'allaitement jusqu'au sevrage.

3. NOMBRE D'ANIMAUX

Pour chaque niveau de dose, on utilisera un nombre d'animaux suffisant pour permettre une interprétation valable des résultats. Sauf pour des primates, les effectifs minimaux proposés pour chaque niveau de dose sont les suivants:

a) études d'embryotoxicité: 20 femelles gravides pour les rongeurs, 12 femelles gravides pour les autres espèces;

b) études de fertilité: 24 femelles et 24 mâles;

c) études périnatales: 12 femelles gravides.

En cas d'utilisation d'une troisième espèce, il est proposé que le nombre d'animaux traités et le nombre d'animaux témoins soient choisis de telle sorte que l'on puisse tirer de l'étude une conçlusion bien nette.

4. STABULATION ET RÉGIME ALIMENTAIRE

Des précisions complètes de stabulation et de mise en cage des animaux doivent être fournies. Le régime alimentaire (y compris les additifs) doit être entièrement spécifié.

5. PHARMACOCINÉTIQUE

Dans la conduite des études de reproduction, il y a lieu de tenir compte de la pharmacocinétique du médicament chez la femelle gravide. Le degré d'exposition du fœtus au médicament doit, dans toute la mesure de ce qui est techniquement possible, avoir été déterminé.

6. ÉVALUATIONS

a) Les fœtus portés par les femelles traitées pendant l'embryogenèse seront examinés après sacrifice des mères et prélèvement des fœtus par césarienne. On relèvera le nombre de corps jaunes, de points d'implantation (points d'implantation visibles et points d'implantation déterminés par méthode spécifique, par exemple méthode de Salewsky), de résorptions, ainsi que le poids et le sexe de chaque fœtus. On examinera chaque fœtus sous l'angle des anomalies externes et on effectuera également un examen adéquat du squelette et/ou des viscères chez tous les fœtus. Chaque fois que l'on observera des anomalies évidentes, on procédera à des examens complémentaires appropriés. Les taux anormalement élevés de résorption méritent une attention particulière, car ils pourraient indiquer la nécessité d'études complémentaires à la recherche d'effets tératogènes aux stades précoces de la gestation.

b) Dans l'étude de fertilité, chez les femelles sacrifiées durant la gestation, les fœtus seront prélevés par césarienne et on relèvera le nombre de corps jaunes, de sites d'implantation, de résorption ainsi que le poids et le sexe de chaque fœtus. On recherchera sur chacun des fœtus des anomalies du squelette et/ou des viscères.

Chez les femelles traitées durant l'étude de fertilité qu'on aura laissé mettre bas et élever leur portée jusqu'au sevrage, on gardera un nombre suffisant de petits en vie pour qu'ils puissent atteindre la maturité, de façon à pouvoir procéder aux examens ultérieurs. On évaluera les effets tardifs du médicament sur la progéniture en termes d'anomalies de l'audition, de la vision et du comportement. On déterminera la capacité de reproduction de la progéniture en permettant au moins à un mâle et à une femelle de chaque portée des animaux traités de se reproduire et donner naissance à une portée (l'accouplement entre frère et sœur n'est pas envisagé).

c) Les femelles traitées pendant les périodes prénatale et postnatale doivent mettre bas spontanément. La progéniture sera examinée au moment du sevrage.

Tous les animaux sacrifiés à la fin de la lactation seront soumis à une autopsie complète. Dans certains cas, on gardera en vie une partie de la progéniture jusqu'à la maturité afin d'en évaluer la capacité de reproduction et de déterminer les effets tardifs du médicament en termes d'anomalies du comportement, de l'audition et de la vision.

7. CONCLUSIONS

L'expérimentateur doit tirer des résultats de ces études des conclusions générales en indiquant:

a) qu'il n'y a pas d'évidence que le médicament ait des effets nocifs sur la fonction de reproduction,

ou

b) qu'il y a évidence que le médicament a sur la fonction de reproduction des effets nocifs qui doivent alors être spécifiés,

ou

c) que les données ne permettent pas de tirer des conclusions.

Si certaines études ont été omises, l'expérimentateur doit justifier cette omission.

Appendice

Durée de la gamétogenèse

Dans les études sur les rongeurs, le traitement du mâle doit durer soixante jours au moins et celui de la femelle quatorze jours au moins avant l'accouplement. Les animaux doivent être âgés de quarante jours environ au début du traitement. Dans l'état actuel des connaissances, ces chiffres sont considérés comme acceptables.

ANNEXE III

POUVOIR CANCÉROGÈNE

Note explicative pour l'application de l'annexe de la directive 75/318/CEE, deuxième partie, chapitre 1er paragraphe E, en vue de l'autorisation de mise sur le marché d'un nouveau médicament

L'évidence la plus forte qu'un composé chimique présente un risque carcinogène pour l'homme est d'ordre épidémiologique bien que la plupart des produits reconnus carcinogènes chez l'homme le soient aussi pour les animaux de laboratoire. Il n'est pas démontré que toutes les substances carcinogènes pour l'animal le soient aussi pour l'homme, mais il est difficile d'affirmer qu'un composé n'est pas carcinogène pour l'homme lorsque sa carcinogénicité a été mise en évidence au cours d'essais sur l'animal.

L'extrapolation à l'homme est un processus difficile, parfois arbitraire; l'idéal serait d'analyser les mécanismes impliqués dans l'augmentation de la fréquence des tumeurs expérimentales et de déterminer si de tels mécanismes, mettant en cause des voies biochimiques spécifiques et conduisant à la formation du véritable carcinogène, peuvent être appliqués à l'homme. Les critères sur lesquels l'extrapolation est basée peuvent varier selon l'agent considéré, l'emploi que l'on projette d'en faire, la dose et le mode d'administration, d'une part, les espèces, les localisations, la fréquence des tumeurs et la dose expérimentale requise, d'autre part.

La probabilité d'un risque carcinogène chez l'homme est augmentée lorsqu'il y a une forte production de tumeurs malignes sur un tissu déterminé quand on donne à l'animal d'expérience la substance en cause par la voie qui sera utilisée chez l'homme et à une dose égale ou plus faible que celle qui détermine la toxicité minimale. Cependant, comme il n'y a pas d'évidence convaincante de l'existence d'un seuil, une augmentation de fréquence de tumeurs bénignes, ou de tumeurs malignes à dose plus forte, ou de réduction de la période de latence, doit être interprétée comme un risque possible pour l'homme. En de telles circonstances l'agent carcinogène est généralement considéré comme moins actif et le risque peut être plus aisément mis en balance avec les avantages associés à l'emploi thérapeutique de ce composé.

1. NÉCESSITÉ D'ÉTUDES DE CARCINOGÉNICITÉ

Les études de carcinogénicité seront généralement nécessaires dans les cas suivants:

a) quand le médicament est susceptible d'être administré régulièrement durant une période substantielle de vie (en continu pendant une durée minimale de six mois ou fréquemment de façon intermittente, de sorte que l'exposition totale soit la même)

ou

b) quand la structure chimique de la substance suggère un effet carcinogène potentiel

ou

c) quand une substance donne lieu à certaines inquiétudes en raison:

i) de certains aspects particuliers de son activité biologique (par exemple appartenance à une classe thérapeutique dont plusieurs membres ont produit des résultats carcinogènes positifs),

ii) des modalités de sa toxicité ou de son accumulation à long terme (médicament lui-même ou métabolites) mises en évidence lors d'études antérieures,

iii) des résultats des essais de mutagénicité et/ou des essais de carcinogénicité à court terme.

Les essais de carcinogénicité ne seront pas obligatoirement considérés comme nécessaires lorsque la substance en question sera utilisée seulement chez des malades dont l'espérance de vie est plus brève que le temps nécessaire au pouvoir cancérigène pour se manifester chez l'homme. Si les circonstances viennent à changer et qu'un médicament de cette dernière catégorie est utilisé pour traiter des affections moins graves, les tests de carcinogénicité deviennent nécessaires. Les substances insolubles qui ne sont pas absorbées peuvent ne pas nécessiter d'étude conventionnelle de carcinogénicité.

2. CHOIX DES ESPÈCES ET DES SOUCHES

Les études de carcinogenèse, lorsqu'elles sont nécessaires, doivent être normalement conduites sur deux espèces. Le devenir métabolique du médicament doit être connu chez les espèces utilisées et, de préférence, doit présenter des ressemblances avec son métabolisme chez l'homme. On tiendra compte des réactions connues des espèces et des souches à des produits chimiques similaires. On évitera d'utiliser des espèces et des souches qui présentent normalement une forte fréquence d'apparition de tumeurs spontanées. Des espèces et des souches sensibles à un ou plusieurs carcinogènes seront choisies par les expérimentateurs. Des témoins positifs ne seront pas systématiquement nécessaires mais la fréquence de tumeurs spontanées des souches utilisées sera notée.

3. TRAITEMENT

a) *Voie et fréquence d'administration*

Dans la mesure du possible, l'administration doit se faire par la voie envisagée en thérapeutique humaine. En cas de nécessité, la preuve de l'absorption du produit sera fournie. La fréquence d'administration sera normalement quotidienne.

b) *Niveaux de dose*

Les essais de carcinogénicité doivent normalement être effectués à trois niveaux posologiques. La dose maximale doit provoquer un effet toxique minimal, par exemple une perte pondérale de 10 % ou un défaut de croissance, ou un effet toxique minimal sur l'organe cible. L'effet toxique sur un organe cible sera démontré par une perturbation des fonctions physiologiques normales et enfin par des altérations pathologiques. La dose minimale devra être de l'ordre de deux à trois fois la dose thérapeutique humaine maximale ou la dose qui produit un effet pharmacologique chez les animaux. La dose intermédiaire sera la moyenne géométrique entre la dose élevée et la dose basse.

Des exceptions à ces principes peuvent se présenter, par exemple, lorsque la dose toxique du produit est un multiple élevé de la dose thérapeutique; dans ces cas, la dose maximale acceptable peut être admise comme étant cent fois la dose thérapeutique humaine, dans la mesure où ceci est techniquement réalisable.

4. ASPECTS PRATIQUES

Les animaux doivent être initialement en bonne santé et être conservés en cet état tout au long de l'étude. Des critères élevés de stabulation sont indispensables. On prendra des précautions spéciales pour l'essai de carcinogènes à inhaler ou volatils.

La qualité pharmaceutique du ou des lots utilisés doit être nettement spécifiée.

a) *Âge des animaux au début de l'étude*

Les études de carcinogénicité doivent commencer dès que possible après le sevrage, c'est-à-dire dès que les animaux sont habitués à leur régime alimentaire et à leur environnement.

b) *Durée des études*

Il est recommandé actuellement de faire des études pendant vingt-quatre mois chez le rat et dix-huit mois chez la souris et le hamster. Lorsque le taux de survie est élevé, il y a avantage à prolonger les études à trente mois chez le rat et vingt-quatre mois chez la souris, ou encore pendant toute la durée de vie des animaux, c'est-à-dire jusqu'à un taux de survie de 20 % des animaux témoins.

c) *Nombre d'animaux par lots*

Pour les essais de routine avec la souris, le rat et le hamster, il est suggéré de prendre cinquante animaux par sexe par lot de traité, ainsi que deux lots témoins de cinquante animaux par sexe recevant l'excipient seul par la même voie (dans la plupart des cas, le médicament sera mélangé à la nourriture).

d) *Régime alimentaire*

Les aliments pour animaux, que l'on trouve dans le commerce, sont variables; des mesures doivent être prises pour obtenir un régime aussi uniforme que possible pendant toute la durée de l'étude de carcinogénicité. La composition complète du régime devra être fournie.

5. CONTRÔLES COMPLÉMENTAIRES

Les études de carcinogénicité devront être planifiées de manière à obtenir un maximum d'informations des animaux d'expérience, mais aucune recherche effectuée dans le but de recueillir des renseignements toxicologiques supplémentaires ne devra porter préjudice à l'objectif principal qui est l'évaluation du potentiel carcinogène du médicament. Les informations sur l'absorption, la distribution et le métabolisme du produit, ainsi que la question de son accumulation éventuelle ou de son effet inducteur enzymatique doivent avoir été obtenues lors d'autres études de toxicité.

6. SCHÉMA STATISTIQUE DE L'ÉTUDE

Il est nécessaire de choisir un plan expérimental approprié et notamment:

i) les cages contenant les animaux des lots traités et témoins devront être réparties dans l'animalerie de manière à éliminer tout biais dû aux effets d'un facteur ambiant;

ii) les animaux seront répartis au hasard dans les unités expérimentales (c'est-à-dire les cages) et la méthode utilisée pour effectuer cette randomisation devra être décrite clairement;

iii) si pour des raisons pratiques imputables à la manipulation d'un grand nombre d'animaux il est décidé d'échelonner le début de l'étude, il est souhaitable que tous les lots soient représentés dans chaque début par un nombre égal d'animaux; dans le cas d'un départ échelonné, le moment où commence l'étude sur les différents lots doit être mentionné.

7. EXAMENS À PRATIQUER AU TERME DE L'ESSAI

7.1. Autopsie

On doit procéder à l'autopsie complète de tous les animaux morts au cours de l'expérimentation ou sacrifiés en raison d'un mauvais état général.

À la fin de l'essai, tous les animaux survivants doivent être sacrifiés et chacun d'eux doit faire l'objet d'une autopsie complète. Les effets toxiques constatés au cours d'essais antérieurs peuvent révéler certains des points qui devront faire l'objet d'examens particuliers. Des analyses hématologiques et biochimiques peuvent faciliter l'interprétation des lésions observées.

7.2. Histopathologie

7.2.1. *Dépistage de la carcinogénicité*

i) Il y a lieu d'effectuer un examen microscopique de tous les tissus et organes énumérés dans la liste et prélevés chez tous les animaux traités à forte dose et tous les animaux témoins, ainsi que

ii) des tissus de tout animal, de tout lot, chez lequel des lésions macroscopiques, quelles qu'elles soient, ont été décelées à l'autopsie.

Si les résultats obtenus sous i) indiquent que des tumeurs se sont formées dans un ou plusieurs organes ou tissus, il convient d'examiner

iii) les tissus et organes des lots traités à dose moyenne ou faible, même s'ils se révèlent normaux du point de vue macroscopique.

Tous les tissus énumérés de tous les animaux morts ou sacrifiés au cours de l'étude doivent être soumis à un examen microscopique.

7.2.2. *Dépistage de la toxicité*

Les effets toxiques décelés au cours d'essais antérieurs peuvent révéler des aspects particuliers à étudier.

Des analyses hématologiques et biochimiques peuvent être utiles pour l'interprétation de toutes lésions observées. Une attention particulière doit être accordée au site d'administration du médicament, s'il est administré autrement que par voie orale.

8. PRINCIPES RÉGISSANT L'EXPOSÉ DES RÉSULTATS DES ÉTUDES DE CARCINOGÉNICITÉ

8.1. Définitions

Un néoplasme malin est un néoplasme qui envahit les tissus environnants et développe sées par une multiplication anarchique et généralement accrue, ainsi que par d'autres caractères morphologiques et fonctionnels moins bien définis.

Un néoplasme malin est un néoplasme qui envahit les tissus environnants et développe des métastases. D'une manière générale, on admet qu'une tumeur est bénigne ou maligne en se basant sur les aspects histopathologiques et sur la corrélation établie par l'anatomo-pathologiste entre les altérations observées et un comportement biologique dont on connaît, à partir d'expériences antérieures, la survenue dans des tumeurs présentant des caractéristiques comparables.

Pour décrire les tumeurs, il y a lieu d'utiliser la terminologie histopathologique conventionnelle en se conformant à des classifications bien définies (Organisation mondiale de la santé, par exemple).

8.2. Présentation des résultats

Il convient en premier lieu de résumer séparément les résultats obtenus pour chacun des lots traités et témoins, en distinguant les sexes, et en indiquant:

1) le nombre d'animaux examinés ainsi que les résultats des examens individuels macro- et microscopiques;

2) les nombres (et les pourcentages) d'animaux présentant des tumeurs en précisant pour chacune d'elles le type et le tissu concerné et en faisant, dans toute la mesure du possible, une distinction entre tumeurs bénignes et tumeurs malignes;

3) dans le cas d'animaux présentant une ou plusieurs tumeurs de même type ou de type différent, la fréquence de distribution du nombre total de tumeurs décelées chez l'animal et du nombre total de tumeurs malignes chez l'animal; si les tumeurs ne peuvent être dénombrées, il y a lieu d'utiliser une méthode d'évaluation de la multiplicité des tumeurs;

4) la date de la mort de chacun des animaux;

5) la date de formation de toute masse tissulaire (décelée à la palpation), son développement et, éventuellement, son aspect histopathologique.

9. ANALYSE DES DONNÉES EXPÉRIMENTALES

Le mode d'analyse et les tests de signification statistique utilisés seront adaptés aux résultats expérimentaux et au schéma expérimental de base. Les méthodes statistiques utilisées seront clairement exposées.

Les résultats seront exprimés de la manière suivante:

i) nombre total d'animaux atteints de tumeurs,

ii) nombre total de tumeurs,

iii) nombre total de tumeurs affectant un tissu déterminé,

iv) nombre total de tumeurs jugées malignes,

v) période de latence avant l'apparition de tumeurs (on utilisera des méthodes actuarielles).

L'analyse sera axée sur:

a) l'évaluation de l'existence d'un effet quelconque de la substance étudiée, telle qu'elle résulte de la comparaison entre la réponse des trois lots traités, considérés comme un ensemble, et celle de deux lots témoins, considérés également dans leur ensemble;

b) l'évaluation pour chaque effet constaté de l'existence d'une relation effet-dose telle qu'elle peut apparaître dans la comparaison des réponses des lots traités à faible, à moyenne, et à forte dose. Cette évaluation est statistiquement indépendante de celle visée sous a).

On aura avantage à consulter un spécialiste de la statistique pour évaluer l'influence d'autres facteurs, tels que la mort des animaux du fait d'autres affections et le sacrifice prématuré des animaux en raison de la détection clinique de tumeurs. Les tests spéciaux de signification statistique qu'il faudra utiliser pour établir la preuve d'un effet ou l'existence d'une relation effet-dose ne sont intentionnellement pas spécifiés. Les données expérimentales peuvent nécessiter une méthode d'analyse différente d'une expérience à l'autre.

On considérera que la substance étudiée est susceptible d'accroître le risque de transformation néoplasique si l'une des réponses ci-dessus est matériellement augmentée (ou si le temps de latence est substantiellement diminué). Le composé sera considéré comme possédant une activité plus puissante vis-à-vis des animaux si plusieurs des réponses précitées sont modifiées et s'il y a une preuve aussi bien de la présence de l'effet que d'une réponse effet-dose. Une augmentation de la fréquence d'appartition des tumeurs chez les animaux traités en comparaison avec les animaux témoins doit être prise en considération quel que soit le mécanisme supposé ou démontré pour le développement de ces tumeurs, mais toute circonstance particulière devra être identifiée et notée. Les exemples suivants concernent des voies métaboliques particulières à une espèce (griseofulvine et métabolisme des porphyrines chez la souris), une forte stimulation des glandes endocrines (particulièrement chez le chien) ou bien encore l'existence de caractères particuliers à une espèce d'animal de laboratoire (calculs vésicaux chez le rat).

Différentes circonstances peuvent mener à:

i) une augmentation de la fréquence ou une réduction du délai d'apparition des tumeurs malignes,

ii) une augmentation de la fréquence des tumeurs bénignes,

iii) l'induction de tumeurs localisée au site d'injection.

10. UTILISATION DES TESTS COURTS DE CARCINOGENÈSE

Il est souhaitable de soumettre les nouveaux produits à des essais de mutagénicité. Cependant les techniques disponibles pour déterminer, par des tests courts, le pouvoir mutagène ou cancérogène des substances chimiques ne peuvent pas se substituer, chez les animaux de laboratoire, aux essais classiques de carcinogenèse pour déterminer le potentiel carcinogène d'un médicament. Des résultats positifs obtenus sur des tests courts impliqueront toujours la nécessité d'études conventionnelles de carcinogenèse si le développement du médicament doit être poursuivi. Les études qui donnent des résultats négatifs ne dispensent pas de réaliser les études classiques lorsque ces dernières sont indiquées pour les raisons exposées au paragraphe 1 ci-dessus.

11. CONCLUSIONS

Il appartient à l'expérimentateur de tirer les conclusions de ces études.

Appendice

Liste des tissus qui doivent faire l'objet d'un examen histologique dans le cadre d'un essai de carcinogénicité

— Lésions macroscopiques

— Masses tissulaires ou tumeurs (y compris les ganglions régionaux lymphatiques)

— Frottis sanguin (en cas d'anémie, d'hypertrophie du thymus, de lymphadénopathie)

— Chaîne ganglionnaire

— Glandes mammaires

— Glandes salivaires

— Sternum, fémur ou vertèbres (y compris la moelle osseuse)

— Hypophyse

— Thymus

— Trachée

— Poumons

— Cœur

— Thyroïde

— Œsophage

— Estomac

— Intestin grêle (méthode du «rouleau suisse»)

— Côlon

— Foie

— Vésicule biliaire

— Pancréas

— Rate

— Reins

— Surrénales

— Vessie

— Prostate

— Testicules

— Ovaires

— Utérus

— Encéphale (sections horizontales sur trois niveaux)

— Yeux

— Moelle épinière

ANNEXE IV

ÉTUDE DE LA PHARMACOCINÉTIQUE ET DU MÉTABOLISME CHEZ LES ANIMAUX, SOUS L'ANGLE DE LA SÉCURITÉ

Note explicative pour l'application de l'annexe de la directive 75/318/CEE, deuxième partie, chapitre 1er paragraphes F et G, en vue de l'autorisation de mise sur le marché d'un nouveau médicament

1. INTRODUCTION

La présente note concerne l'évolution dans le temps de l'absorption, de la distribution, de l'excrétion et du métabolisme de nouveaux médicaments sous l'angle de leur sécurité. Ces données sont essentielles à de nombreux stades d'évaluation d'un médicament, par exemple pour:

a) déterminer les taux du médicament et de ses métabolites ainsi que leur cinétique dans le sang, les liquides biologiques et les organes;

b) obtenir des informations sur les relations entre la toxicité au niveau de l'organe cible et les concentrations du médicament dans le sang, les liquides organiques et les organes;

c) évaluer la possibilité d'une induction enzymatique et d'une accumulation du médicament en cas d'administration répétée;

d) sélectionner dans la mesure du possible les espèces animales à utiliser dans le cadre des études toxicologiques en raison de leur ressemblance avec l'homme sur le plan du devenir du médicament, et déterminer l'applicabilité des résultats de ces études toxicologiques à l'homme.

2. SPÉCIFICATIONS CONCERNANT LES MÉDICAMENTS

Des spécifications concernant les propriétés physiques et chimiques de la substance médicamenteuse ainsi que sur la stabilité de la préparation doivent être fournies.

En cas d'utilisation d'un médicament marqué, la position du marquage dans la molécule et l'activité spécifique de la substance doivent être indiquées. Il convient de tenir compte, lors du choix de la position du marquage, de son devenir métabolique probable.

3. MÉTHODES

Les données concernant les taux du médicament et de ses métabolites dans le sang, les liquides biologiques, les organes et les excrétions peuvent être obtenues par des méthodes physiques, chimiques ou biologiques. L'expérimentateur doit justifier dans le détail les méthodes employées, leur validité et leur reproductibilité, y compris leur spécificité, leur précision et leur exactitude (l'étude de l'évolution dans le temps des effets pharmacodynamiques peut fournir d'utiles informations supplémentaires).

En cas d'utilisation de médicaments marqués, il faut tenir compte du fait que la mesure du traceur dans les liquides biologiques peut ne pas correspondre à celle du médicament non modifié, mais qu'elle peut inclure des métabolites et des dérivés conjugués marqués. La possibilité d'un échange isotopique avec les composés endogènes ne doit pas être négligée.

4. ESPÈCES

En règle générale, les espèces animales utilisées pour les besoins de ces études sont celles que l'on emploie couramment au laboratoire pour les études pharmacologiques et toxicologiques. Si d'autres espèces sont sélectionnées, il convient d'indiquer la raison de cette sélection.

Une étude préliminaire de la cinétique et du métabolisme du médicament sur un nombre restreint de sujets humains peut fournir des renseignements utiles au choix de l'espèce animale à utiliser pour les études de toxicité par administration réitérée.

5. ADMINISTRATION DU MÉDICAMENT

Dans la mesure du possible, les doses et les voies d'administration doivent tenir compte de l'usage clinique envisagé pour le médicament. L'une des voies d'administration sélectionnées doit garantir l'absorption du médicament, si cela correspond à l'usage que l'on entend en faire chez l'homme.

6. PRÉSENTATION DES RÉSULTATS

Des informations doivent être fournies sur les points suivants:

i) absorption (fraction absorbée et vitesse),

ii) distribution dans les principaux organes et tissus, et évolution dans le temps, dans les liquides biologiques,

iii) demi-vie au niveau du sang, du plasma ou du sérum,

iv) fixation protéique dans le plasma,

v) caractérisation du profil métabolique dans les excréta et, si cela est réalisable, identification des principaux métabolites,

vi) voie et évolution dans le temps de l'élimination du médicament et de ses métabolites,

vii) si l'excrétion biliaire est la voie majeure d'élimination, la possibilité d'un cycle entérohépatique doit être recherchée,

viii) un bilan qualitatif de la dose administrée doit être tenté,

ix) la possibilité d'une induction enzymatique doit être recherchée. Si l'on découvre qu'une telle induction se produit, on examinera son importance en fonction de l'utilisation envisagée du médicament.

7. CONCLUSIONS

Des conclusions appropriées seront tirées de ces essais, compte tenu des objectifs indiqués au point 1.

ANNEXE V

ASSOCIATIONS MÉDICAMENTEUSES SPÉCIALISÉES

Note explicative pour l'application de l'annexe de la directive 75/318/CEE, troisième partie, chapitre II paragraphe C point 2, en vue de l'autorisation de mise sur le marché d'un nouveau médicament

1. JUSTIFICATION

Les demandeurs sont tenus de justifier l'association particulière de principes actifs, qui est proposée. Les associations médicamenteuses spécialisées ne seront considérées comme acceptables que si l'association proposée est fondée sur des principes thérapeutiques valables.

Il convient d'évaluer les avantages potentiels de toute association fixe par rapport à ses inconvénients sur le plan clinique, pour déterminer si elle est conforme aux exigences des normes et protocoles en matière d'efficacité et de sécurité.

Les avantages potentiels des associations médicamenteuses spécialisées incluent:

1) l'amélioration du rapport effets thérapeutique/toxique, par exemple à la suite du renforcement de l'effet thérapeutique;

2) la simplification de la thérapie conduisant à une meilleure acceptation de la part du patient.

Les inconvénients des associations médicamenteuses spécialisées incluent:

1) le fait que, même si l'association répond aux besoins du patient moyen, elle est rarement formulée de la manière correspondant le mieux aux besoins individuels;

2) l'accumulation des réactions adverses.

Les associations peuvent en principe ne pas être considérées comme rationnelles si la demi-vie biologique et/ou la durée d'action diffèrent de façon significative, mais il n'en sera pas nécessairement ainsi s'il peut être prouvé que l'association est cliniquement valable malgré les différences dans ce domaine, par exemple si un composant est destiné à augmenter l'absorption de l'autre ou si les composants sont destinés à exercer leurs effets successivement.

L'inclusion d'une substance pour antagoniser un effet adverse de l'un des autres composants peut être considérée comme justifiée, à condition que la réaction adverse survienne communément.

L'inclusion d'un composant destiné à provoquer des effets secondaires désagréables, comme moyen de prévenir les usages abusifs, n'est pas souhaitable.

Les substances ayant une gamme posologique critique ou un indice thérapeutique faible ne se prêtent généralement pas à l'inclusion dans les associations médicamenteuses spécialisées.

2. INDICATIONS

Les indications revendiquées pour une association médicamenteuse spécialisée doivent être telles que la présence de chaque composant est justifiée pour chacune des indications. La préparation doit être formulée de manière que la quantité et la proportion de chacun de ses composants soient appropriées à tous les usages recommandés.

De toute évidence, une «indication» doit correspondre à un état pathologique, à des troubles fonctionnels, à un syndrome ou à une entité pathologique très nets. Les différents composants d'une association peuvent avoir pour but l'atténuation simultanée des différents symptômes de l'état en question, mais chaque symptôme individuel ne doit pas être considéré comme une indication en ce qui concerne l'association fixe, étant donnée qu'il peut être présent aussi dans le cas d'autres affections et que pour le traitement de ce seul symptôme les autres composants peuvent être sans utilité aucune.

3. SÉCURITÉ ET EFFICACITÉ

Il est permis de faire une distinction entre la teneur des études exigées pour les associations spécialisées qui sont très semblables à des associations déjà couramment utilisées, à condition que celles-ci soient étayées par une documentation complète et fiable, et celle des études exigées pour les associations qui sont essentiellement nouvelles (parce que les médicaments en cause ne sont pas habituellement associés, parce que la composition quantitative est inhabituelle ou parce que l'un des composants est entièrement nouveau).

En règle générale, les études de sécurité des associations médicamenteuses doivent être faites chez l'animal (avec les mêmes proportions de principes actifs que dans les associations en question). Ces études ne sont pas exigées lorsque tous les composants ont été utilisés fréquemment et de manière sûre chez l'homme, pendant une période prolongée, dans des associations identiques ou très similaires, et lorsqu'il existe au sujet de ces dernières une documentation valable.

L'efficacité et la sécurité d'une association médicamenteuse spécialisée doivent avoir été étudiées chez l'homme. Dans les cas d'associations connues, des données bibliographiques bien établies pourront être acceptées. Une nouvelle association devra faire l'objet d'essais cliniques pour définir le rôle joué par chacun de ses composants dans l'ensemble.

4. INTERACTIONS

La possibilité d'interaction entre les composants doit toujours être envisagée. Lorsqu'une interaction pharmaceutique, pharmacocinétique ou pharmacodynamique semble possible, le demandeur doit fournir des données prouvant soit qu'elle ne se produit pas, soit qu'elle est bien connue et définie.

5. EFFETS ADVERSES

S'il y a lieu de s'attendre à ce qu'une association médicamenteuse spécialisée soit plus nocive ou provoque des effets adverses plus fréquents que les composants administrés individuellement, le demandeur doit fournir la preuve qu'il n'en est pas ainsi dans le cadre de l'usage thérapeutique ou que les avantages de l'association, par exemple une efficacité accrue, l'emportent sur les inconvénients cités.

6. POSOLOGIE

L'association médicamenteuse doit être sûre et efficace dans toute la gamme des doses recommandées.

7. CONDITIONNEMENTS COMPOSITES

Les principes applicables aux associations médicamenteuses spécialisées le sont aussi à l'évaluation des préparations contenant différents produits médicinaux présentés conjointement sous un même emballage et destinés à une administration simultanée ou séquentielle.

8. COMBINAISONS ET COMPLEXES CHIMIQUES

Les substances de ce type qui se dissocient avant absorption en deux ou plusieurs composants actifs peuvent être considérées aux fins d'application des dispositions qui précèdent, comme des associations fixes de ces substances plutôt que comme des entités chimiques.