AANBEVELING VAN DE RAAD

van 26 oktober 1983

betreffende de proeven met het oog op het in de handel brengen van farmaceutische specialiteiten

(83/571/EEG)

DE RAAD VAN DE EUROPESE GEMEENSCHAPPEN,

Gelet op het Verdrag tot oprichting van de Europese Economische Gemeenschap, inzonderheid op artikel 235,

Gezien het voorstel van de Commissie,

Gezien het advies van het Europese Parlement (1),

Gezien het advies van het Economisch en Sociaal Comité (2),

Overwegende dat Richtlijn 65/65/EEG (3) tot de onderlinge aanpassing van de wettelijke en bestuursrechtelijke bepalingen van de Lid-Staten inzake farmaceutische specialiteiten heeft geleid en dat de Richtlijnen 75/318/EEG (4) en 75/319/EEG (5) die aanpassing hebben voortgezet en de in Richtlijn 65/65/EEG vastgelegde beginselen hebben ontwikkeld;

Overwegende in het bijzonder dat Richtlijn 75/318/EEG een algemeen kader aangeeft voor het testen van farmaceutische specialiteiten, een opsomming geeft van de verschillende typen uit te voeren proeven, en bepaalde beginselen stelt voor het onderzoek van de aanvragen om een vergunning voor het in de handel brengen;

Overwegende dat uit de ervaring is gebleken dat de uitvoering en inhoud van de proeven nog gedetailleerder dienen te worden vastgesteld, ten einde een gelijke toepassing van de Gemeenschapsrichtlijnen bij het uitvoeren van de proeven en het onderzoek van de aanvragen door de nationale autoriteiten mogelijk te maken;

Overwegende dat derhalve behoefte bestaat aan toelichtingen om beoordelingsverschillen bij de toepassing van de normen en voorschriften bedoeld in Richtlijn 75/318/EEG te voorkomen, waardoor tevens het vrije verkeer van farmaceutische specialiteiten zal worden bevorderd;

Overwegende dat de proeven waarmee de kwaliteit, de veiligheid en de doeltreffendheid van farmaceutische specialiteiten moet worden vastgesteld, voortdurend moeten worden aangepast aan de stand van wetenschap en techniek, zonder echter tot een verkwisting van hulpmiddelen te leiden of tot een gebruik van laboratoriumdieren dat het strikt noodzakelijke te boven gaat;

Overwegende dat het derhalve in hoge mate gewenst is dat, enerzijds, de toelichtingen periodiek worden herzien om rekening te houden met de stand der techniek en dat, anderzijds, nieuwe toelichtingen worden opgesteld aan de hand van de noodzakelijke prioriteiten, in overleg met de nationale instanties;

Overwegende dat een dergelijke vooruitgang bij de harmonisatie, die noodzakelijk is in communautair verband, eveneens ten goede zal komen aan de erkenning op internationaal niveau van volgens deze toelichtingen uitgevoerde proeven met geneesmiddelen, en er aldus toe zal bijdragen dat herhaling van proeven met het oog op de uitvoer naar derde landen wordt voorkomen;

Overwegende dat het Geneesmiddelencomité en het Comité voor farmaceutische specialiteiten over de maatregelen in deze aanbeveling zijn geraadpleegd,

BEVEELT DE LID-STATEN AAN:

1. Erop toe te zien dat de aanvragers van vergunningen voor het in de handel brengen van farmaceutische specialiteiten bij het uitvoeren van proeven en het overleggen van de resultaten, beginselen en methodiek van de in de bijlagen opgenomen toelichtingen naleven.

2. Overeenkomstig deze toelichtingen de aanvragen om een vergunning voor het in de handel brengen te behandelen en te beoordelen.

Gedaan te Luxemburg, 26 oktober 1983.

Voor de Raad

De Voorzitter

G. MORAITIS

---

(1) PB nr. C 287 van 9. 11. 1981, blz. 127.
(2) PB nr. C 189 van 30. 7. 1981, blz. 39.
(3) PB nr. 22 van 9. 2. 1965, blz. 369/65.
(4) PB nr. L 147 van 9. 6. 1975, blz. 1.
(5) PB nr. L 147 van 9. 6. 1975, blz. 13.

BIJLAGE I

TOXICITEIT BIJ HERHAALDE TOEDIENING

Toelichting voor de toepassing van de bijlage bij Richtlijn 75/318/EEG, deel II, hoofdstuk I, onder B, punt 2, met het oog op het verlenen van de vergunning voor het in de handel brengen van een nieuw geneesmiddel

1. INLEIDING

Het doel van deze studies is informatie verkrijgen met betrekking tot de toxiciteit van een produkt, wanneer herhaalde blootstelling aan dit geneesmiddel wordt verwacht, zulks ten einde een evaluatie te kunnen maken van het risico dat voortvloeit uit therapeutische toediening van het produkt, waarbij rekening wordt gehouden met de produkten van biotransformatie.

De duur van deze studies zal worden bepaald door het beoogde gebruik bij de mens of door de voorgenomen duur van de blootstelling van de mens. De volgende toedieningsperiodes worden voorgesteld als richtsnoer om de duur van de toxiciteitsstudies met herhaalde toediening te correleren met de voorgestelde duur van blootstelling van de mens aan het geneesmiddel.

Voorgestelde behandelingsduur bij de mens	*Voorgestelde duur van de dosistoxiciteitsstudies bij herhaalde toediening*
Eén of meer dosissen in één dag	2 weken
Herhaalde dosissen gedurende hoogstens 7 dagen	4 weken
Herhaalde dosissen gedurende hoogstens 30 dagen	3 maanden
Herhaalde dosissen gedurende meer dan 30 dagen	6 maanden

Wanneer de blootstelling van de mens vermoedelijk over een langere termijn zal lopen, bij voorbeeld wanneer frequente intermitterende toediening resulteert in een totale blootstellingsperiode van één maand of meer gedurende een periode van één jaar, of wanneer de retentie in het lichaam van één enkele dosis van het geneesmiddel wordt verlengd, dan zal de duur van de dosistoxiciteitsproeven bij herhaalde toediening zes maanden bedragen.

Wanneer het nodig is toxiciteitsstudies met een duur van drie of zes maanden uit te voeren, kan een subacute toxiciteitsstudie met een duur van twee of vier weken worden opgezet en op zodanige wijze uitgevoerd dat zij kan dienen ter oriëntatie voor het onderzoek op langere termijn (zie 2.5).

De reden hiervan is dat bij toediening van een te hoge dosis er aan het einde van een studie die drie maanden of langer duurt, te weinig dieren nog in leven zouden zijn; toediening van een te lage dosis zou de ontwikkeling van toxische veranderingen verhinderen.

1.1. Algemene vereisten met betrekking tot de toxiciteitsproeven bij herhaalde toediening

In de bijlage van Richtlijn 75/318/EEG wordt in deel II, toxicologische en farmacologische proeven, vermeld dat bij deze proeven onder meer de toxiciteitsgrenzen moeten worden opgegeven: „De toxiciteitsproeven bij herhaalde toediening hebben ten doel de functionele en/of anatomisch-pathologische veranderingen bij herhaalde toediening van het onderzochte werkzame bestanddeel of van combinaties van werkzame bestanddelen vast te stellen, en te bepalen in welke omstandigheden, afhankelijk van de doseringen, deze veranderingen zich voordoen.

In het algemeen is het wenselijk twee proeven te nemen: een korte, van twee tot vier weken, en een langere, waarvan de duur afhankelijk is van de klinische toepassingsomstandigheden. Laatstgenoemde proef heeft ten doel de experimentele onschadelijkheidsgrenzen van het onderzochte produkt vast te stellen.".

Aangezien deze grenzen slechts kunnen worden bepaald door ze te overschrijden, moet de toxiciteitsproef bij herhaalde toediening zo zijn opgezet dat tekenen van toxiciteit worden aangetoond. Dit impliceert dat:

1.1.1. het wenselijk is, bij de keuze van proefdiersoorten voor studies op lange termijn, voorafgaande aan het op de markt brengen, dat de gekozen soort inzake metabolisme en farmacokinetica van het geneesmiddel zo dicht mogelijk bij de mens ligt als mogelijk is binnen het gewone spectrum van laboratoriumdieren die voor studies met herhaalde toediening worden gebruikt. Indien er significante verschillen in metabolisme zijn, moet hiermee rekening worden gehouden bij de evaluatie van de resultaten.

1.1.2. het wenselijk is dat de organen waarop de farmacologische werking van het produkt is gericht en de farmacologische effecten van het produkt bij de gebruikte soort, dezelfde zijn als die welke bij het therapeutische effect dat voor de mens wordt beoogd, zijn betrokken, voor zover dit bekend en uitvoerbaar is.

1.1.3. de dosering, de toedieningsweg en de frequentie van toediening zo moeten worden bepaald dat zij een belasting van het dierlijke organisme met het produkt en zijn metabolieten bewerkstelligen die voldoende is om schadelijke effecten aan te tonen in het orgaan (de organen) waarop de farmacologische werking van het produkt is gericht. Bij het opstellen van het protocol wordt rekening gehouden met de farmacokinetische gegevens van het geneesmiddel.

Door continue toediening van een geneesmiddel in voldoende hoge dosissen kunnen de volgende voornaamste stadia worden bereikt:

a) de belasting van het organisme met het geneesmiddel neemt toe totdat een evenwichtsstadium wordt bereikt;

b) aanpassing van het organisme aan de belasting met betrekking tot de organen waarop de farmacologische werking is gericht, de biotransformatie-enzymen of de uitscheidingsmechanismen;

c) in sommige gevallen kan een tweede metabolisch traject worden geactiveerd door een overbelasting van het eerste detoxicatietraject; als resultaat hiervan kan een nieuwe toxische metaboliet worden gevormd;

d) een fase waarin de toxiciteit voor het doelwitorgaan zich manifesteert door storing van de fysiologische functies en uiteindelijk door pathologische veranderingen.

Toediening van het produkt in het kader van toxiciteitsstudies bij herhaalde toediening dient voldoende te zijn wat dosering en duur betreft om dit laatste stadium d) te bereiken, zodat het type toxiciteit dat wordt teweeggebracht door een overmatige dosis en het veelvoud van de therapeutische dosis waarmee toxiciteit wordt veroorzaakt, kunnen worden vastgesteld. Onder dergelijke omstandigheden zou moeten worden bewezen dat de hoogst mogelijke dosis werd toegediend en dat het geneesmiddel in de bloedbaan werd geabsorbeerd.

2. EISEN MET BETREKKING TOT HET GENEESMIDDEL EN DE TOEDIENING ERVAN

2.1. Kwaliteit van het geneesmiddel

De werkzame stof moet, wanneer mogelijk, hetzelfde patroon van onzuiverheden vertonen als het produkt dat op de markt moet worden gebracht. Wanneer zou worden aangetoond dat de werkzame stof in de uiteindelijke doseringsvorm onzuiverheden bevat die, hetzij in kwantiteit, hetzij in kwaliteit, significant verschillen van de in de proefpartij gebruikte, moeten verdere stappen worden ondernomen om de mogelijke toxiciteit ervan na te gaan. Wanneer het geneesmiddel oraal wordt toegediend, kunnen zijn fysische kenmerken, zoals de deeltjesgrootte, belangrijk zijn; daarom moeten de fysische kenmerken en de stabiliteit van het materiaal, gebruikt in de toxiciteitsstudies bij herhaalde toediening, in ieder geval worden opgegeven. Wanneer meer dan één partij van de werkzame stof wordt gebruikt in toxiciteitsstudies bij herhaalde toediening, moet dit worden opgegeven en moet elke partij worden geïdentificeerd. De bij de toxiciteitsstudies bij herhaalde toediening gebruikte partij of partijen mag/mogen geen hogere zuiverheidsgraad hebben dan die welke bestemd zijn voor het eindprodukt. Wanneer het geneesmiddel wordt toegediend in voedsel of drinkwater, moet worden vastgesteld of het in dit medium stabiel is.

Wanneer een nieuw excipiëns voor de eerste maal wordt gebruikt, dient dit aan dezelfde criteria te worden getoetst als een nieuwe werkzame stof.

2.2. Duur van de toediening

De duur van deze studies dient te worden gerelateerd aan de duur van het beoogde therapeutische gebruik bij de mens (zie 1).

2.3. **Toedieningsweg**

Overal waar dit technisch uitvoerbaar is, moet het produkt worden toegediend langs de voor gebruik bij de mens voorgeschreven weg en het is wenselijk dat het farmacologische effect langs deze weg kan worden aangetoond. Wanneer dit niet kan worden aangetoond, moet het gebruik van andere toedieningswegen worden overwogen. (Toediening door middel van inhalatie is besproken in aanhangsel B). De hoeveelheid geneesmiddel die vanuit de gekozen plaats van toediening wordt opgenomen, moet bekend zijn uit farmacokinetische studies. Wanneer het produkt wordt toegediend in voedsel of drinkwater, moet de aanvrager waarborgen dat een redelijke en bekende hoeveelheid van het ingenomen geneesmiddel wordt opgenomen. Bij dosering door opneming van de onderzochte stof in het voedsel of in drinkwater is regelmatige aanpassing van de hoeveelheid geneesmiddel in het voedsel of in drinkwater noodzakelijk om rekening te houden met de groei en met wijzigingen van het verbruik.

Naast de systemische toxiciteit moet voldoende aandacht worden besteed aan de mogelijkheid van lokale toxiciteit op de plaats van toediening, bij voorbeeld in het geval van aanbrenging op de huid, intravaginale toediening, intraveneuze, intramusculaire, rectale, subcutane, intra-articulaire, intrathecale, conjunctivale toediening en aanbrenging in de neus of in het oor of wanneer het geneesmiddel wordt geïnhaleerd.

2.4. **Frequentie van de toediening**

De evenwichtstoestand van de belasting van het organisme met bepaalde produkten wordt slechts bereikt wanneer deze produkten elke week gedurende zeven dagen worden toegediend. Doorgaans moet de toediening van een geneesmiddel aan dieren op deze basis worden uitgevoerd. Indien dit onmogelijk is, dient de reden te worden opgegeven.

Wanneer de snelheid van eliminatie traag is, kan minder frequente toediening aanvaardbaar zijn. Een snel eliminatietempo of gastrische intolerantie kunnen het noodzakelijk maken de produkten meer dan eens per dag toe te dienen.

2.5. **Dosisniveaus**

De behandeling moet omvatten:

a) een hoge dosis, gekozen met het oog op het — zo mogelijk — veroorzaken van toxiciteit in het doelwitorgaan of, bij het ontbreken hiervan, een andere, niet-specifieke toxiciteit of de maximale dosis die nog kan worden toegediend.

   Voor een toxiciteitsstudie met een duur van drie of zes maanden dient deze dosis te worden afgeleid uit een subacute toxiciteitstest met een duur van twee of vier weken, die is opgezet en wordt uitgevoerd als een studie om het juiste dosistraject te vinden;

b) een lage dosis, die voldoende is om een farmacodynamisch effect of het gewenste therapeutische effect te veroorzaken, of om bloedspiegels te produceren die vergelijkbaar zijn met die welke noodzakelijk zijn om deze effecten bij de mens teweeg te brengen;

c) een tussenliggende dosis, zoals het meetkundig gemiddelde tussen de hoge en de lage dosis;

d) de studie dient het nodige aantal controlegroepen te omvatten; in bijzondere gevallen kan een positieve controlegroep noodzakelijk zijn.

Voornoemde overwegingen gelden evenwel niet wanneer het farmacodynamisch effect op zichzelf toxiciteit veroorzaakt; hypoglykemie door antidiabetica kan hier als voorbeeld worden genomen.

De onderzoeker moet de basis aanduiden waarop de dosisniveaus werden geselecteerd.

2.6. **Voorlopers van geneesmiddelen („pro-drugs")**

Wanneer het toegediende produkt een voorloper is, moet de omzetting daarvan in een werkzaam geneesmiddel bij de bestudeerde soort worden aangetoond.

3. VEREISTEN VOOR HET PROEFDIER

3.1. Diersoort: keuze en kenmerken

Voor zover mogelijk moet de soort worden gekozen op basis van haar gelijkenis met de mens wat de farmacokinetica betreft, met inbegrip van de biotransformatie van het produkt (zie 1.1.1).

Het farmacodynamische effect van het geneesmiddel moet in ten minste één van de soorten worden aangetoond, om informatie te verkrijgen omtrent de marge tussen therapeutische en toxische effecten.

De onderzoeker moet de keuze van de soort en het ras motiveren. Gebruik van SPF-dieren verhoogt gewoonlijk de waarde van de studie.

3.2. Geslacht

Normaal moeten gelijke aantallen mannelijke en vrouwelijke dieren worden gebruikt.

3.3. Grootte van de behandelingsgroepen

Bij het bepalen van de grootte van de behandelingsgroepen, dient aandacht te worden besteed aan het volgende:

a) De grootte van de behandelingsgroepen dient zo te zijn dat alle toxicologisch belangrijke effecten die aan behandeling zijn toe te schrijven, aan het licht komen.

b) De behandelingsgroepen moeten groot genoeg zijn om bij tussenpozen, vóór het einde van de maximale behandelingsperiode voor de proeven, dieren te kunnen doden zonder dat dit een invloed heeft op de uiteindelijke statistische analyse.

c) De behandelingsgroepen moeten groot genoeg zijn om het mogelijk te maken dat een aantal dieren worden behouden bij de afsluiting van de doseringsperiode, zodat de reversibiliteit van eventuele toxische veranderingen aan het einde van de behandeling kan worden beoordeeld.

d) Achtergrondkennis met betrekking tot de reeksen veranderlijken die moeten worden bestudeerd bij de gebruikte soorten en rassen is ook relevant bij de bepaling van de grootte van de groep.

De grootte van controle- en behandelingsgroepen zal evenwel om praktische en financiële redenen en uit humane overwegingen altijd beperkt zijn.

3.4. Aantal soorten

Het doel van de toxiciteitsstudies bij herhaalde toediening is het verschaffen van een diermodel voor de herhaalde toediening van het produkt aan de mens. De waarde van het model voor de extrapolatie naar de mens is in grote mate afhankelijk van de kwalitatieve gelijkenis tussen het diermodel en de mens; dit is meestal onbekend. Om het risico van fouten bij de extrapolatie, die toe te schrijven zijn aan bepaalde effecten of aan het ontbreken van effecten die eigen zijn aan een soort, te verminderen, moeten ten minste twee soorten worden gebruikt: één daarvan geen knaagdier.

De keuze der soorten moet worden verantwoord (zie 1.1.1).

4. VERZORGING DER DIEREN

Er is een hoog niveau van dierenverzorging vereist; de milieu-omstandigheden dienen te worden beheerst en het voedselpakket moet gedurende de gehele periode een bekende, constante samenstelling hebben. Maatregelen die worden genomen om aan deze voorwaarden te voldoen dienen in het rapport te zijn vermeld.

5. WAARNEMINGEN

5.1. Waarden voorafgaande aan de behandeling en controlewaarden

Controlegegevens van de kolonie zijn noodzakelijk voor kleine zoogdieren, voor alle morfologische, biochemische en fysiologische variabelen. Bij grotere dieren dienen waarden voorafgaande aan de behandeling te worden verkregen van de in de studie gebruikte dieren.

5.2. **Controle tijdens de studie**

5.2.1. *Algemene controle*

Tijdens de studie moet een algemene controle worden uitgevoerd en deze moet de voedselopname, het lichaamsgewicht, hematologie, klinische chemie, urineanalyse, oftalmologie, ECG en algemeen gedrag omvatten. De selectie van de gebruikte technieken en de keuze van andere proeven moet aangepast zijn aan de huidige stand van de kennis en aan de gebruikte diersoort. Bij knaagdieren is het aanvaardbaar, indien ECG en oftalmologische of andere gespecialiseerde onderzoeken noodzakelijk zijn, dat deze bij een beperkt aantal dieren op elk dosisniveau worden uitgevoerd.

5.2.2. *Frequentie van de controle*

De frequentie van de controle naast die welke vóór de behandeling zijn uitgevoerd en de slotcontrole moet worden afgestemd op het zich manifesteren van toxiciteit en ook op de farmacokinetica van het geneesmiddel. De tijdens de controle uitgevoerde proeven (met inbegrip van de inzameling van bloedmonsters) moeten ook worden verricht op de controledieren en mogen de proefdieren niet zodanig beïnvloeden dat de uiteindelijke interpretatie van de resultaten van de toxiciteitstest wordt beïnvloed.

5.2.3. *Voedselopname*

Wanneer produkten in het voedsel worden toegediend, moet bijzondere aandacht worden besteed aan het effect van het produkt op het voedselgebruik. Er moet rekening worden gehouden met de op de inneming van het geneesmiddel volgende effecten.

5.3. **Slotcontrole**

De eindwaarnemingen moeten zo volledig mogelijk zijn. Op alle dieren moet autopsie worden uitgevoerd. Op alle in aanhangsel A opgegeven organen en weefsels van de groepen waaraan de hoogste dosis wordt toegediend en van de controlegroepen moet histopathologisch onderzoek worden uitgevoerd. Bij knaagdieren mag het onderzoek van de groepen met een lagere dosis worden beperkt tot die organen en weefsels die pathologische veranderingen vertonen bij de autopsie. Bij andere soorten waar kleine hoeveelheden dieren worden gebruikt, dient bij *alle* dieren en voor *alle* dosissen histopathologisch onderzoek van de opgegeven weefsels te worden uitgevoerd.

Indien de organen niet microscopisch worden onderzocht, dienen paraffineblokjes of coupes te worden geprepareerd en gedurende vijf jaar te worden bewaard, met ingang van de dag waarop het produkt op de markt werd gebracht, om zo nodig te kunnen worden onderzocht. Eigenaardigheden bij de verdeling van het geneesmiddel kunnen verdere histopathologische studies vereisen.

6. IMMUNO-INTERFERENTIE

De hoge vlucht die de immunologie heeft genomen en de erkenning van het belang ervan hebben het noodzakelijk gemaakt aandacht te besteden aan de beïnvloeding van het immunologisch systeem door geneesmiddelen, zelfs wanneer een en ander niet tot de beoogde werkzaamheid van het geneesmiddel behoort. Een dergelijke beïnvloeding kan ongewenste neveneffecten veroorzaken (interferentie met infectie; carcinoom). Derhalve is het bijzonder belangrijk de milt, de thymus en een aantal lymfeknopen macroscopisch en microscopisch te onderzoeken bij de afsluiting van de toxiciteitsstudie. Deze weefsels dienen een aanduiding te geven van mogelijke effecten op het immunologisch systeem en aldus de noodzaak van verdere proeven aan te tonen.

Aangezien onze huidige kennis op dit gebied snel toeneemt, dient elke proef die wordt gebruikt om de immunologische effecten van een geneesmiddel te onderzoeken, te zijn gebaseerd op de stand van de wetenschappelijke kennis op dat ogenblik.

7. CONCLUSIES

De onderzoeker moet conclusies uit deze studies trekken.

Aanhangsel A

Lijst van weefsels die histologisch moeten worden bestudeerd bij de uitvoering van toxiciteitsstudies bij herhaalde toediening

— Grove laesies

— Gezwellen of tumoren (met inbegrip van plaatselijke lymfeknopen)

— Bloeduitstrijkjes (in geval van anemie, vergrote thymus, lymfadenopathie)

— Lymfeknopen

— Borstklieren

— Speekselklieren

— Sternebrae, dijbeen of wervels (met inbegrip van beenmerg)

— Hypofyse

— Thymus

— Luchtpijp

— Longen

— Hart

— Schildklier

— Slokdarm

— Maag

— Dunne darm („Swiss roll method")

— Dikke darm

— Lever

— Galblaas

— Alvleesklier

— Milt

— Nieren

— Bijnieren

— Blaas

— Prostaat

— Testikels

— Eierstokken

— Baarmoeder

— Hersenen (coronale secties op drie niveaus)

— Ogen

— Ruggemerg

Aanhangsel B

Uitvoering van studies inzake toxiciteit door middel van inhalatie

1. INLEIDING

Farmaceutische produkten die bestemd zijn voor toediening aan mensen door middel van inhalatie kunnen hetzij aërosolen zijn, die de farmacologisch actieve stof in vaste of vloeibare toestand bevatten, hetzij dampen of gassen. Laatstgenoemde produkten worden gebruikt als inhalatie-anaesthetica, terwijl aërosolen in het algemeen een geneeskrachtige stof bevatten in de vorm van deeltjes die in een drijfgas worden opgenomen dat in principe biologisch inactief moet zijn.

Toxicologische studies uitgevoerd door middel van inhalatie zijn noodzakelijk wanneer:

a) de farmacokinetica na toediening via inhalatie kwalitatief of kwantitatief kan verschillen van het patroon dat bereikt wordt na andere toedieningswegen,

of

b) geneesmiddel en drijfgas in het lichaam op elkaar kunnen inwerken,

of

c) het geïnhaleerde produkt een plaatselijk effect kan hebben in de luchtwegen, hetzij een effect op korte termijn (effect op de ciliaire functie of andere tekenen van plaatselijke irritatie) of een effect op lange termijn (emfyseem, bronchitis, maligniteit).

Aërosolen worden gebruikt voor de toediening van geneesmiddelen, om (1) een plaatselijk effect in het ademhalingssysteem te bereiken, of (2) systemische effecten te verkrijgen door het gebruik van de binnenwand van de luchtwegen voor de absorptie van de actieve verbinding, of (3) de verandering van geneesmiddelen in het maag-darmkanaal te voorkomen.

In sommige omstandigheden kunnen toxicologische studies over het geneesmiddel zijn uitgevoerd met gebruik van andere toedieningswegen; derhalve kan reeds uitgebreid toxicologisch onderzoek via andere toedieningswegen zijn uitgevoerd wanneer studies via inhalatie worden gepland. In andere gevallen, bij voorbeeld bij plaatselijk actieve verbindingen zoals mucolytische agentia, kan toxicologisch onderzoek via andere toedieningswegen niet aanwezig of weinig relevant zijn. Bij de planning van studies inzake toxiciteit bij inhalatie zou rekening moeten worden gehouden met reeds bestaande toxicologische of farmacologische kennis van de stof.

2. FYSISCH-CHEMISCHE EIGENSCHAPPEN

De informatie met betrekking tot de fysisch-chemische eigenschappen van de actieve stof dient op dezelfde wijze te worden verschaft als voor een andere toxicologische studie. Er dient aanvullende informatie te worden verstrekt met betrekking tot de kenmerken van de aërosol, waarin de kansverdeling van de deeltjes- of druppeltjesgrootte van de actieve stof en de fysisch-chemische specificatie van de stof (of stoffen) die als drijfgas wordt (worden) gebruikt, dienen te zijn opgenomen.

Het drijfgassysteem dat in deze studies wordt gebruikt dient hetzelfde te zijn als wordt voorgesteld voor het definitieve produkt. Indien een nieuw drijfgassysteem wordt gebruikt, dient dit aan dezelfde norm te worden getoetst als een nieuwe actieve stof.

3. DOSERINGSSCHEMA'S

3.1. **Toediening**

De toedieningsmethode is afhankelijk van de aard van de stof en van het voorgenomen gebruik bij de mens. Bij acute studies kan het wenselijk zijn de stof direct in de luchtwegen toe te dienen via een nasotracheale buis of door een tracheotomie. Op deze wijze kan de toegediende hoeveelheid direct worden bepaald.

Bij studies inzake blootstelling gedurende lange tijd zal het meestal nodig zijn hetzij „alleen kop"- of „alleen neus"-expositiekamers of -inhalatiemaskers te gebruiken. Indien gebruik wordt gemaakt van de blootstelling van het volledige lichaam dan dient bij het bepalen van de dosis van de toegediende stof rekening te worden gehouden met afzetting

van het geneesmiddel op de huid, in de vacht, in de bovenste luchtwegen en met de oraal ingenomen hoeveelheid.

Er moet worden aangetoond dat de toedieningsweg waarborgt dat de substantie de gewenste plaats bereikt.

3.2. **Dosisniveaus**

In deze studies moeten normaal drie dosisniveaus en, al naar wenselijkheid, één of meer controlegroepen worden gebruikt, zowel bij de onderzoekingen met enkelvoudige als bij die met herhaalde toediening. Verschillende niveaus van blootstelling aan het geneesmiddel kunnen worden bereikt door wijziging van de concentratie van de geïnhaleerde stof of door wijziging van de duur van de blootstelling. Bij de selectie van de dosisniveaus moeten dezelfde beginselen gelden, voor zover zulks mogelijk is, als voor toxiciteitsstudies via andere wegen.

De redenen om bijzondere dosisniveaus te kiezen dienen te worden opgegeven.

3.3. **Duur van de studie**

De duur van de studie dient, ten minste tot op zekere hoogte, te worden gerelateerd aan de duur van de voor de mens beoogde blootstelling.

4. FARMACOKINETICA EN METABOLISME

Het biotransformatiepatroon van het via inhalatie toegediende geneesmiddel kan verschillen van het patroon dat werd waargenomen na toediening via andere wegen. De onderzoeker dient vast te stellen of er farmacokinetische of metabolische verschillen zijn die relevant zijn voor de interpretatie van de toxicologische studies die via inhalatie worden uitgevoerd.

Wanneer biotransformatie in de long zelf plaatsgrijpt, dient rekening te worden gehouden met de mogelijkheid van enzymatische inductie van dit proces.

5. DIEREN

De proefdieren die bij deze studies worden gebruikt dienen vrij te zijn van longinfectie en niet al te zeer aan andere pulmonaire pathologie te lijden.

Het aantal proefdieren dat in elke groep moet worden gebruikt moet zich lenen voor statistische analyse en wordt bepaald door de duur van het experiment en door het aantal observaties, metingen en tussentijdse secties gedurende de blootstellingsperiodes. Ten minste één knaagdier- en één niet-knaagdiersoort dienen voor alle onderzoekingen met herhaalde blootstelling te worden gebruikt.

6. WAARNEMINGEN

Tussentijdse controle en afsluitende studies dienen te worden uitgevoerd zoals aangeduid voor andere toxiciteitsstudies. Bijzondere aandacht dient te worden besteed aan eventuele plaatselijke effecten. Indien het geneesmiddel herhaaldelijk moet worden toegediend kunnen speciale studies van de ciliaire functie en met betrekking tot de microflora noodzakelijk zijn.

Controle op de aanwezigheid van het geneesmiddel en het drijfgas in het bloed of andere methodes om de absorptie van het geneesmiddel en drijfgas na te gaan, dienen bij tussenpozen gedurende herhaalde dosisstudies te worden uitgevoerd.

Afsluitend onderzoek

Bij de afsluiting van de studie dient op alle dieren autopsie te worden uitgevoerd en moet een onderzoek van de weefsels worden uitgevoerd, zoals bij andere toxicologische studies.

Bij studies die via inhalatie worden uitgevoerd, dienen de longen van alle dieren te worden gewogen en moet histopathologisch onderzoek worden uitgevoerd op weefselmonsters van alle blootgestelde niveaus van het ademhalingskanaal en van daarmee verbonden lymfoïd weefsel.

7. PRESENTATIE VAN DE RESULTATEN EN CONCLUSIES

Deze dienen op dezelfde wijze te worden opgesteld als bij andere toxiciteitsstudies en de onderzoeker dient uit de studie de passende conclusies te trekken.

BIJLAGE II

BESTUDERING VAN DE VOORTPLANTINGSFUNCTIE

Toelichting voor de toepassing van de bijlage bij Richtlijn 75/318/EEG, deel II, hoofdstuk I, onder C en D, met het oog op het verlenen van de vergunning voor het in de handel brengen van een nieuw geneesmiddel

ALGEMENE OPMERKING

De studie van de effecten van een geneesmiddel op de voortplanting moet op elk nieuw geneesmiddel zodanig worden uitgevoerd dat de aanwezigheid wordt aangetoond van eventuele effecten op het paringsgedrag en van effecten die kunnen leiden tot verlies van de foetus, misvorming van de foetus en schade aan de nakomelingen in hun later leven, zoals:

i) veranderingen in de vruchtbaarheid of in de voortbrenging van abnormale jongen, die toe te schrijven zijn aan beschadiging van de mannelijke en vrouwelijke gameten,
ii) invloed op de stadia vóór inplanting en de stadia van de inplanting bij de ontwikkeling van het bevruchte ei,
iii) toxische effecten op het embryo,
iv) toxische effecten op de foetus,
v) wijzigingen in de fysiologie van de moeder die secondaire effecten op embryo of foetus teweegbrengen,
vi) effecten op de groei of ontwikkeling van baarmoeder of placenta,
vii) invloed op de baring,
viii) effecten op de postnatale ontwikkeling en het zogen van de nakomelingen en op de melkafscheiding bij de moeder,
ix) late effecten op de nakomelingen.

SPECIFIEKE RICHTSNOEREN

Bij de interpretatie van de volgende toelichtingen moet men zich er rekenschap van geven dat dit geen strakke eisen zijn en dat ze mogelijk niet universeel toepasbaar zijn. De interpretatie dient derhalve soepel te zijn en in verband te staan met het voorgestelde gebruik van het geneesmiddel; de keuze van de studies moet worden gemotiveerd.

1. SELECTIE VAN DE SOORTEN

Embryotoxiciteitsstudies moeten in de regel op twee zoogdiersoorten worden uitgevoerd; één daarvan mag geen knaagdier zijn. Vruchtbaarheids- en perinatale studies moeten bij ten minste één diersoort worden uitgevoerd. Wanneer men weet dat het metabolisme van een geneesmiddel bij een specifieke soort gelijkenis vertoont met het metabolisme bij de mens, is het wenselijk deze soort bij het onderzoek te betrekken. Het is wenselijk dat één van de soorten dezelfde is als bij de toxiciteitsstudies bij herhaalde toediening. Studies met een derde soort kunnen nuttig zijn, wanneer men met de eerste twee soorten tegenstrijdige resultaten verkrijgt. De in de studies gebruikte soorten en rassen moeten worden opgegeven.

2. DOSERING

Dosering vindt in de regel plaats op drie niveaus. De hoogste dosis dient gewoonlijk zo hoog te zijn dat enige vorm van toxiciteit bij de moeder kan worden aangetoond, bij voorbeeld een afnemen van de toename van het lichaamsgewicht. De laagste dosis moet voldoende zijn om een farmacodynamisch effect te verkrijgen dat gelijkt op het gewenste therapeutische effect, of om bloedspiegels te produceren overeenkomstig die welke vereist zijn om het effect teweeg te brengen (dit is niet van toepassing indien het farmacodynamisch effect op zichzelf toxiciteit veroorzaakt). De intermediaire dosis moet het meetkundig gemiddelde zijn van de hoge en de lage doses.

Het middel moet worden verstrekt volgens de voorgestelde toedieningswegen.

De doseringsschema's voor het onderzoek naar de effecten van geneesmiddelen op de voortplanting moeten in de regel omvatten:

a) embryotoxiciteitsstudies; dosering gedurende de gehele periode van de embryogenese (organogenese) bij twee soorten, waarvan de ene geen knaagdier mag zijn;

b) een vruchtbaarheidsonderzoek; dit moet bij ten minste één soort worden uitgevoerd. Met de toediening aan mannelijke en vrouwelijke dieren moet lang genoeg vóór de voorgestelde paring worden aangevangen, zodat eventuele effecten van het geneesmiddel op de gametogenese aan het licht kunnen worden gebracht. Dieren waaraan het middel wordt toegediend kunnen worden gepaard met partners waaraan eveneens het middel wordt toegediend; in geval van positieve aanwijzingen voor een defect bij de voortplanting, moet het onderzoek echter worden herhaald met niet-behandelde partners. Na de paring moet de toediening aan de behandelde wijfjes tijdens de gehele dracht blijven doorgaan.

   De helft van de wijfjes moet tijdens de dracht worden gedood, bij voorkeur enkele dagen vóór de verwachte worpdatum en de foetussen moeten met de keizersnede worden verwijderd en onderzocht. Aan overblijvende vrouwelijke dieren moet de mogelijkheid worden geboden om normaal hun jongen te werpen en deze groot te brengen;

c) perinatale studies; deze moeten worden uitgevoerd bij ten minste één diersoort. Tijdens de hele dracht, van het einde van de organogenese tot de baring, en de hele zogingsperiode, tot het spenen, moet de toediening blijven doorgaan.

3. AANTAL DIEREN

Voor elk dosisniveau moeten zoveel dieren worden gebruikt dat de resultaten naar behoren kunnen worden beoordeeld. Met uitzondering van de primaten worden de volgende minimumaantallen per dosisniveau voorgesteld:

a) embryotoxiciteitsstudies: 20 drachtige wijfjes bij knaagdieren, 12 bij niet-knaagdieren;

b) vruchtbaarheidsstudies: 24 wijfjes en 24 mannetjes;

c) perinatale studies: 12 drachtige wijfjes.

Wanneer een derde soort wordt gebruikt, wordt voorgesteld voldoende behandelde dieren samen met controledieren te gebruiken om een duidelijke conclusie uit de studie te kunnen trekken.

4. VERBLIJF EN VOEDING

Alle bijzonderheden omtrent de verblijfsomstandigheden in stallen of kooien moeten worden opgegeven. Er moet een volledige specificatie van de voeding (met inbegrip van additieven) worden overgelegd.

5. FARMACOKINETICA

Bij de uitvoering van studies inzake de voortplanting moet rekening worden gehouden met de farmacokinetica van het geneesmiddel bij het drachtige dier. De mate waarin de foetus aan het geneesmiddel wordt blootgesteld moet, voor zover dat technisch mogelijk is, worden nagegaan.

6. BEOORDELINGEN

a) De foetussen van de dieren die tijdens de embryogenese werden behandeld, moeten worden onderzocht. De dieren moeten worden gedood en de foetussen met de keizersnede verwijderd. Bij deze dieren moeten het aantal corpora lutea, de inplantingsplaatsen (zichtbare en die welke met speciale technieken worden bepaald, bij voorbeeld met de Salewsky-methode), de resorpties, het gewicht en het geslacht van de afzonderlijke foetussen worden genoteerd. De afzonderlijke foetussen moeten op uiterlijke afwijkingen worden onderzocht en bij alle foetussen moeten het skelet, de ingewanden of beide aan een passend onderzoek worden onderworpen. Wanneer duidelijke afwijkingen worden gevonden, dient het onderzoek te worden voortgezet. Bijzondere aandacht moet worden besteed aan abnormaal hoge aantallen resorpties, aangezien dit kan wijzen op de noodzaak van verdere studies met het oog op teratogene effecten in de vroege stadia van de dracht.

b) Bij het vruchtbaarheidsonderzoek moeten de foetussen van vrouwelijke dieren die tijdens de dracht werden gedood, met de keizersnede worden verwijderd en dienen de volgende gegevens te worden geregistreerd: aantal corpora lutea, inplantingsplaatsen, resorpties, gewicht en geslacht van de afzonderlijke foetussen. Alle foetussen moeten worden onderzocht met het oog op afwijkingen aan het skelet en/of de ingewanden.

Van de dieren die gedurende het vruchtbaarheidsonderzoek werden behandeld en die men normaal laat werpen en hun jongen grootbrengen tot de speentijd, moet men een voldoende groot aantal nakomelingen laten leven en hun volle ontwikkeling doen bereiken om de mogelijkheid te bieden voor latere onderzoekingen. Late effecten van het geneesmiddel op de nakomelingen, uitgedrukt in verzwakking van het gezichtsvermogen, het gehoor en aantasting van het gedrag, moeten worden nagegaan. De voortplantingsfunctie bij de nakomelingen moet worden vastgesteld door ten minste één mannetje en één wijfje uit elke worp van dieren waaraan het geneesmiddel werd toegediend één worp te laten voortbrengen (het is niet de bedoeling nakomelingen van één oudepaar te paren).

c) Men moet de wijfjes die tijdens de pre- en de postnatale periode werden behandeld, spontaan laten werpen en de nakomelingen moeten bij het spenen worden onderzocht. Alle dieren die gedood worden bij het einde van de zogingsperiode moeten aan een grondige autopsie worden onderworpen. Onder bepaalde omstandigheden mogen een aantal van de nakomelingen blijven leven en hun volle ontwikkeling bereiken, zodat hun voortplantingsvermogen kan worden nagegaan en andere late effecten van het geneesmiddel op de nakomelingen uitgedrukt in verzwakking van het gezichtsvermogen en het gehoor en aantasting van het gedrag, kunnen worden vastgesteld.

7. CONCLUSIES

De onderzoeker moet algemene conclusies trekken uit de resultaten van deze studies, waarin wordt aangegeven, hetzij

a) dat er geen nadelige effecten op de voortplantingsfunctie(s) aantoonbaar zijn, hetzij

b) dat er nader te specifiëren nadelige effecten op de voortplantingsfunctie(s) aantoonbaar zijn, hetzij

c) dat uit de beschikbare gegevens geen conclusies kunnen worden getrokken.

Indien bepaalde onderzoeken achterwege werden gelaten, moet de onderzoeker dit verantwoorden.

Aanhangsel

Duur van de gametogenese

In de richtlijnen van de FDA wordt voorgesteld dat bij studies met knaagdieren de doses aan het mannetje gedurende minimaal 60 dagen en aan het vrouwtje gedurende minimaal 14 dagen vóór de paring moeten worden toegediend. De dieren moeten bij het begin van de behandeling ongeveer 40 dagen oud zijn. Bij de huidige stand van de kennis worden deze periodes als aanvaardbaar beschouwd.

BIJLAGE III

KANKERVERWEKKENDE EFFECTEN

Toelichting voor de toepassing van de bijlage bij Richtlijn 75/318/EEG, deel II, hoofdstuk I, onder E, met het oog op het verlenen van de vergunning voor het in de handel brengen van een nieuw geneesmiddel

Het sterkste bewijsmateriaal om aan te tonen dat een verbinding bij de mens kanker kan verwekken is epidemiologisch, hoewel de meeste stoffen waarvan bekend is dat zij bij de mens kankerverwekkend zijn, tevens bij proefdieren kanker blijken te verwekken. Dat alle stoffen die carcinogeen zijn voor dieren, ook carcinogeen zijn voor de mens, valt niet te bewijzen, maar het is moeilijk te stellen dat een stof niet-carcinogeen voor de mens is, wanneer zij bij dierenstudies wel kanker blijkt te kunnen verwekken.

De extrapolatie naar de mens is een moeilijke, soms willekeurige procedure en de ideale methode zou zijn de mechanismen te onderzoeken die een rol spelen bij de toeneming van het aantal experimentele tumoren en vast te stellen of dergelijke mechanismen met specifieke biochemische reactiewegen en het ontstaan van het meest voor de hand liggende carcinogeen, op de mens van toepassing zijn. De criteria waarop de extrapolatie is gebaseerd, kunnen variëren naar gelang van de onderzochte stof, het voorgenomen gebruik daarvan, de dosering en de wijze van toediening enerzijds en de soort, de locatie, het voorkomen van tumoren en de vereiste dosis in de proef anderzijds.

Het risico van kanker bij de mens is groter, wanneer meer kwaadaardige tumoren in een specifiek weefsel ontstaan en de te beproeven stof aan het proefdier werd toegediend langs de weg die ook bij de mens moet worden gebruikt en in een dosis die gelijk is aan of lager dan die welke de minimale toxiciteit veroorzaakt. Aangezien er evenwel geen overtuigende bewijzen voor het bestaan van een drempelwaarde zijn, moet een toename van het aantal goedaardige tumoren, of van kwaadaardige tumoren bij een hogere dosering, of een vermindering van de latentietijd als een mogelijk risico voor de mens worden geïnterpreteerd. Onder dergelijke omstandigheden wordt de stof in het algemeen als minder gevaarlijk beschouwd en kan het risico gemakkelijker worden afgewogen tegen de voordelen van het gebruik van de stof voor therapeutische doeleinden.

1. VEREISTEN VOOR STUDIES INZAKE CARCINOGENE EIGENSCHAPPEN

Dergelijke studies zijn gewoonlijk noodzakelijk onder de volgende omstandigheden:

a) indien het medicament waarschijnlijk gedurende een lange levensperiode (ten minste zes maanden continu of frequent intermitterend gebruik zodat de patiënt vergelijkbaar lang wordt blootgesteld) regelmatig wordt toegediend, of

b) indien een stof een chemische structuur heeft die de mogelijkheid van kankerverwekking doet veronderstellen, of

c) indien een stof een zekere verontrusting wekt die toe te schrijven is aan:

   i) een specifiek aspect van zijn biologische werking (bij voorbeeld een therapeutische groep stoffen waarvan er reeds verschillende positieve carcinogene effecten hebben teweeggebracht),

   ii) zijn toxiciteits- of retentiepatroon op lange termijn (van het geneesmiddel zelf of van zijn biotransformatieprodukten), aan het licht gebracht bij vorige studies,

   iii) de resultaten van experimenteel onderzoek naar mutagene effecten en/of kortdurend onderzoek op carcinogeniciteit.

Onderzoek op carcinogene eigenschappen kan als niet noodzakelijk worden beschouwd wanneer de desbetreffende stof alleen wordt gebruikt bij patiënten van wie de verwachte levensduur korter is dan de periode waarin een chemische stof bij de mens zijn carcinogene werking kan ontplooien. Mochten de omstandigheden veranderen en mocht een geneesmiddel van de laatste soort in minder ernstige omstandigheden worden gebruikt, dan zou onderzoek op carcinogene eigenschappen alsnog noodzakelijk worden. Voor onoplosbare stoffen die niet worden opgenomen, is een formeel onderzoek op carcinogene eigenschappen soms overbodig.

2. SELECTIE VAN SOORTEN EN RASSEN

Is een onderzoek naar de carcinogene eigenschappen vereist, dan moet dit in de regel op twee soorten worden uitgevoerd. De biotransformatie van het geneesmiddel in de gebruikte soort moet bekend zijn en bij voorkeur gelijkenissen met de biotransformatie in de mens vertonen. Kennis moet worden genomen van reacties van bekende soorten en rassen op soortgelijke chemicaliën. Soorten en rassen waarbij spontane tumoren vaak voorkomen moeten in de regel worden vermeden. Voor de studie dienen soorten en rassen te worden gekozen waarvan bekend is dat zij gevoelig zijn voor één of meer carcinogene stoffen. Positieve controledieren zijn niet stelselmatig vereist, maar het spontaan voorkomen van tumoren bij de gebruikte rassen moet worden geregistreerd.

3. DOSERING

a) *Toediening en frequentiewijze*

Waar mogelijk zou de stof moeten worden toegediend op de wijze die ook voor de klinische toedieningsweg wordt voorgesteld. Waar relevant, moet kunnen worden aangetoond dat de stof wordt geabsorbeerd. In de regel zal de stof dagelijks worden toegediend.

b) *Dosisniveaus*

Het onderzoek op carcinogene eigenschappen dient in de regel met drie verschillende doses te worden uitgevoerd. De hoogste dosis moet een minimaal toxisch effect teweegbrengen, bij voorbeeld een verlies van 10 % in gewicht, gebrekkige groei of een minimale toxiciteit in het doelwitorgaan. De toxiciteit in het doelwitorgaan wordt aangetoond door storing van fysiologische functies en uiteindelijk door pathologische veranderingen. De laagste dosis moet ongeveer twee tot driemaal zo groot zijn als de maximale therapeutische dosis voor mensen of de dosis die bij dieren een farmacologisch effect teweegbrengt. De middelste dosis moet het meetkundig gemiddelde zijn van de hoge en de lage dosis.

Uitzonderingen op deze beginselen kunnen voorkomen, bij voorbeeld wanneer de toxische dosis van het geneesmiddel een groot veelvoud is van de therapeutische dosis; onder deze omstandigheden is het aanvaardbaar dat de hoogste dosis wordt vastgesteld op circa 100 maal de therapeutische dosis voor mensen, wanneer dit technisch uitvoerbaar is.

4. PRAKTISCHE KENMERKEN

De dieren moeten bij het begin van de studie in goede algemene gezondheid verkeren en deze moet gedurende de hele studie worden gehandhaafd. De dierverzorging moet aan hoge eisen voldoen. Bijzondere voorzorgsmaatregelen zijn noodzakelijk wanneer inhaleerbare of vluchtige carcinogenen worden onderzocht.

De farmaceutische kwaliteit van de gebruikte charge(s) moet duidelijk worden aangegeven.

a) *Leeftijd van de dieren bij het begin van de studie*

Studies over carcinogene eigenschappen moeten zo vlug mogelijk na het spenen worden aangevangen, dat wil zeggen zodra de dieren aan hun voedsel en hun omgeving zijn gewend.

b) *Duur van de studies*

De thans aanbevolen praktijk bestaat erin studies uit te voeren gedurende 24 maanden op de rat en 18 maanden op de muis en de hamster. Wanneer het overlevingspercentage hoog is, kan het nodig zijn de studies tot 30 maanden te verlengen bij de rat en tot 24 maanden bij de muis of tot de gehele levensduur van de dieren, maar dan tot 20 % overleving bij de controledieren.

c) *Aantal dieren per groep*

Voor routineproeven met muizen, ratten en hamsters wordt voorgesteld voor ieder geslacht 50 dieren per behandelde groep te nemen en twee controlegroepen van 50 voor elk geslacht waaraan alleen het excipiëns via dezelfde weg wordt toegediend (in de meeste gevallen wordt het geneesmiddel met het voedsel toegediend).

d) *Samenstelling van het voedsel*

Kwaliteit en samenstelling van voedsel uit de handel schommelen. Er moet voor worden gezorgd dat het voedsel gedurende de hele duur van de studie zo uniform mogelijk is. Het voedsel moet volledig worden gespecificeerd.

5. BIJKOMEND ONDERZOEK

Carcinogeniciteitsonderzoek moet zo worden ontworpen dat de maximale hoeveelheid informatie uit de gebruikte dieren wordt verkregen; onderzoekingen die worden ondernomen om aanvullende, toxicologische gegevens te verkrijgen, mogen het hoofddoel van het onderzoek, de evaluatie van het kankerverwekkende vermogen van een geneesmiddel, niet schaden. Informatie met betrekking tot de absorptie, de verdeling en de biotransformatie van het geneesmiddel, het al dan niet accumuleren van het geneesmiddel of de enzym-inducerende werking daarvan, moet tijdens andere toxiciteitsstudies zijn verkregen.

6. STATISTISCHE OPZET VAN DE STUDIE

De juiste experimentele benadering moet worden gekozen waarbij er in het bijzonder voor moet worden gezorgd dat:

i) de kooien met de dieren uit de behandelings- en controlegroepen zo worden opgesteld in het dierverblijf dat afwijkingen die toe te schrijven zijn aan de effecten van lokale milieufactoren worden geëlimineerd;

ii) de dieren aselect worden verdeeld over de verschillende experimentele eenheden (bij voorbeeld kooien), waarbij de hiervoor toegepaste methode duidelijk moet zijn aangegeven.

iii) Wanneer om praktische redenen in verband met de behandeling van zulke grote aantallen dieren wordt besloten de studie niet met alle dieren gelijktijdig te beginnen, is het wenselijk dat alle groepen bij elk beginpunt in gelijke mate zijn vertegenwoordigd. Indien de studie aldus gespreid wordt begonnen, moeten de tijdstippen waarop de verschillende groepen dieren in studie worden genomen, worden aangegeven.

7. TERMINAAL ONDERZOEK

7.1. **Autopsie**

Er moet een volledige autopsie worden uitgevoerd op alle dieren die tijdens de studie sterven of wegens hun slechte gezondheidstoestand worden gedood.

Bij de afsluiting van de studie moeten alle overlevende dieren worden gedood en moet op elk dier een volledige autopsie worden uitgevoerd. Tevoren gebleken toxische effecten kunnen aanleiding vormen tot onderzoek op bijzondere punten. Hematologisch en biochemisch onderzoek kan nuttig zijn bij de interpretatie van eventueel aangetroffen laesies.

7.2. **Histopathologie**

7.2.1. *Screening met betrekking tot carcinogeniciteit*

i) Microscopisch onderzoek moet worden uitgevoerd zowel op alle opgegeven weefsels **en organen van alle dieren die met hoge dosissen zijn behandeld en in de controlegroepen,**

ii) als op weefsels van elk dier uit elke groep waarbij bij de autopsie macroscopische laesies van enige aard werden aangetroffen.

Indien de resultaten van i) erop wijzen dat in één of meer organen of weefsels tumoren voorkomen:

iii) **moeten deze weefsels bij de dieren in de behandelingsgroepen met middelmatige en lage dosis microscopisch worden onderzocht, al zijn ze macroscopisch normaal.**

Bij alle dieren die tijdens de studie sterven of worden gedood, moet microscopisch onderzoek worden uitgevoerd op alle opgegeven weefsels.

7.2.2. *Screening met betrekking tot toxiciteit*

Vroeger aangetoonde toxische effecten kunnen een aanwijzing vormen voor bijzondere aspecten die moeten worden onderzocht.

Hematologisch en biochemisch onderzoek kan nuttig zijn bij de interpretatie van een waargenomen laesie. Bijzondere aandacht moet worden besteed aan de plaats van toediening, wanneer het geneesmiddel anders dan oraal wordt toegediend.

8. PRINCIPES VOOR DE OPSTELLING VAN HET VERSLAG INZAKE CARCINOGENE EIGENSCHAPPEN

8.1. **Definities**

Een neoplasma (tumor) wordt beschouwd als een populatie van abnormale cellen met een onbeheerste en meestal verhoogde proliferatieve activiteit en andere minder duidelijk omschreven morfologische en functionele kenmerken.

Een kwaadaardig neoplasma dringt door in de omringende weefsels of vormt metastasen. **In het algemeen wordt de tumor als goedaardig of kwaadaardig beschouwd op basis van zijn histopathologisch voorkomen en op basis van het verband dat door de patholoog wordt gelegd tussen dergelijke wijzigingen en biologisch gedrag waarbij hij uit vroegere ervaring weet dat het voorkomt bij tumoren die vergelijkbare kenmerken vertonen.**

De tumoren moeten worden beschreven in conventionele histopathologische termen overeenkomstig duidelijk omschreven klassificaties (bij voorbeeld WGO).

8.2. **Presentatie van de gegevens**

In de eerste plaats moeten de resultaten worden samengevat voor elke behandelingsgroep en elke controlegroep afzonderlijk, waarbij de geslachten gescheiden worden gehouden: aangegeven moeten worden:

1. het aantal onderzochte dieren en de resultaten van het globale en microscopisch onderzoek van elk dier,

2. de aantallen (en percentages) dieren met tumoren van elk geïdentificeerd type in een gespecificeerd weefsel, waarbij zo mogelijk onderscheid wordt gemaakt tussen kwaadaardige en goedaardige tumoren;

3. voor dieren met één of meer tumoren van hetzelfde of een verschillend type, een frequentieverdeling van het totale aantal in het dier aangetroffen tumoren en een frequentieverdeling van het totale aantal in het dier aangetroffen kwaadaardige tumoren. Indien de tumoren niet kunnen worden geteld, moet in de plaats daarvan een **soort gradering van de aantallen tumoren worden gebruikt**;

4. tijdstip van elk tussentijds overlijden;

5. tijdstip van verschijnen van een gezwel (uitgaande van klinische betasting) en toeneming daarvan, zowel als de uiteindelijke histopathologie ervan.

9. ANALYSE VAN DE GEGEVENS

De vorm van de analyse en de gebruikte statistische significantieproeven moeten aangepast zijn aan het type van gegevens en aan de fundamentele proefopzet. De gebruikte statistische methodes moeten duidelijk worden aangegeven.

De responsies moeten op de volgende wijze worden opgesteld:

i) de vaststelling van het totaal aantal dieren met tumoren;

ii) de vaststelling van het totaal aantal tumoren;

iii) de vaststelling van het aantal tumoren die in een specifiek weefsel voorkomen;

iv) de vaststelling van het aantal tumoren die kwaadaardig worden geacht;

v) de latentieperiode vóór het verschijnen van de tumor (met gebruik van actuariële methoden).

De analyse moet gericht zijn op:

a) de vaststelling van de aanwezigheid van eventuele effecten van de bestudeerde stof, zoals aangetoond door het contrast tussen de responsie in de drie behandelde groepen als geheel en de responsie in de twee controlegroepen als geheel;

b) de vaststelling of een effect verband houdt met de dosis, zoals blijkt uit de tendens in de responsies in de groepen met lage, middelmatige en hoge dosering. Deze vaststelling is statistisch onafhankelijk van die onder a).

Men moet kunnen beschikken over deskundig statistisch advies om de invloed van andere factoren te kunnen beoordelen, zoals de dood van proefdieren wegens andere ziekten en het voortijdig doden van dieren wegens klinisch geconstateerde tumoren. De bijzondere toetsen op statistische significantie die moeten worden gebruikt bij de beoordeling van de aanwezigheid van een effect of van een verband met de dosis worden opzettelijk niet nader omschreven. De gegevens in één experiment kunnen een benadering vereisen die verschilt van die voor de gegevens in een ander experiment.

Het te onderzoeken middel dient te worden beschouwd als in staat om neoplastische wijzigingen tot stand te brengen, indien een of meer van de voornoemde responsies objectief is vergroot (of de latentieperiode objectief korter is geworden). De stof kan geacht worden op het dier sterker in te werken, wanneer verschillende responsies afwijkingen vertonen en indien zowel een relatie tussen dosis en responsie als de aanwezigheid van het effect kan worden aangetoond. Een verhoogd voorkomen van tumoren in behandelde dieren ten opzichte van de controledieren is belangrijk, ongeacht het veronderstelde of vastgestelde mechanisme voor de ontwikkeling van dergelijke tumoren, maar alle bijzondere omstandigheden moeten worden geïdentificeerd of opgemerkt. Voorbeelden hiervoor zijn bekende biotransformatiewegen die specifiek kunnen zijn voor een soort (de biotransformatie van griseofulvine en porfyrine bij de muis), sterke stimulering van de endocriene klieren (in het bijzonder bij de hond), of de ontwikkeling van fysische kenmerken die specifiek zijn voor de soort (blaasstenen bij de rat).

Verschillende omstandigheden kunnen leiden tot:

i) een verhoogd voorkomen of een verkorte latentieperiode van kwaadaardige tumoren,

ii) een verhoogd voorkomen van goedaardige tumoren,

iii) lokale inductie van tumoren op de plaats van de injectie.

10. NUT VAN KORTDURENDE STUDIES OVER CARCINOGENE EIGENSCHAPPEN

De evaluatie van de mutagene activiteit van nieuwe stoffen is wenselijk. De beschikbare technieken waarmee chemicaliën op korte termijn op hun mutageniciteit/carcinogeniciteit worden getest, komen evenwel niet in aanmerking als vervangmiddel voor een onderzoek met dieren om de carcinogene eigenschappen van een geneesmiddel vast te stellen. Studies op korte termijn met positieve resultaten wijzen altijd op de noodzaak van een formeel onderzoek naar de carcinogene eigenschappen indien het in de bedoeling ligt het middel verder te ontwikkelen; studies met negatieve resultaten sluiten de noodzaak van een formeel onderzoek niet uit, wanneer dit om de in paragraaf 1 vermelde redenen wenselijk is.

11. CONCLUSIES

Het is de taak van de onderzoeker de conclusies uit deze studies te trekken.

Aanhangsel

Lijst van weefsels die histologisch moeten worden bestudeerd bij een onderzoek naar carcinogene eigenschappen

— Grove laesies

— Gezwellen of tumoren (met inbegrip van plaatselijke lymfeknopen)

— Bloeduitstrijkjes (in geval van anemie, vergrote thymus, lymfadenopathie)

— Lymfeknopen

— Borstklieren

— Speekselklieren

— Sternebrae, dijbeen of wervels (met inbegrip van beenmerg)

— Hypofyse

— Thymus

— Luchtpijp

— Longen

— Hart

— Schildklier

— Slokdarm

— Maag

— Dunne darm („Swiss roll method")

— Dikke darm

— Lever

— Galblaas

— Alvleesklier

— Milt

— Nieren

— Bijnieren

— Blaas

— Prostaat

— Testikels

— Eierstokken

— Baarmoeder

— Hersenen (coronale secties op drie niveaus)

— Ogen

— Ruggemerg

BIJLAGE IV

BESTUDERING VAN DE FARMACOKINETICA EN VAN HET METABOLISME BIJ DIEREN UIT HET OOGPUNT VAN DE VEILIGHEID

Toelichting voor de toepassing van de bijlage bij Richtlijn 75/318/EEG, deel II, hoofdstuk I, onder F en G, met het oog op het verlenen van de vergunning voor het in de handel brengen van een nieuw geneesmiddel

1. INLEIDING

Deze richtsnoeren hebben betrekking op het verloop in de tijd van de absorptie, de verdeling en de excretie van nieuwe geneesmiddelen alsmede op de biotransformatie daarvan in samenhang met hun veiligheid. Dergelijke gegevens zijn van essentieel belang voor verschillende fasen van het onderzoek van een geneesmiddel, onder andere:

a) om het gehalte in het bloed, in de lichaamsvochten en in de organen van het geneesmiddel in kwestie en de metabolieten daarvan alsmede hun kinetiek te bepalen;

b) om gegevens te verkrijgen over het verband tussen de toxiciteit voor het doelwitorgaan en de concentraties van het geneesmiddel in het bloed, de lichaamsvochten en de organen;

c) om de mogelijkheid van enzyminductie en van cumulatie van het geneesmiddel bij herhaalde toediening vast te stellen;

d) om, waar dit enigszins mogelijk is, voor het toxicologisch onderzoek diersoorten te selecteren die het geneesmiddel op soortgelijke wijze verwerken als de mens en om de relevantie van dit toxiciteitsonderzoek voor de mens te bepalen.

2. GEGEVENS OVER HET GENEESMIDDEL

Er dienen gedetailleerde gegevens te worden verstrekt over de fysische en chemische eigenschappen van het werkzame bestanddeel van het geneesmiddel; de stabiliteit van het preparaat moet eveneens worden aangegeven.

Indien gebruik wordt gemaakt van een gemerkt geneesmiddel, dienen de plaats van de merkstof in het molecule en de specifieke activiteit van het materiaal te worden aangegeven. Bij het bepalen van de plaats van de merkstof, moet rekening worden gehouden met de te verwachten biotransformatie.

3. METHODES

Gegevens over het gehalte in het bloed, in de lichaamsvochten en in de organen en de excreten van het geneesmiddel in kwestie en de biotransformatieprodukten daarvan kunnen worden verkregen via fysische, chemische of biologische methodes. De onderzoeker dient alle onderdelen van de toegepaste methodes te verantwoorden, en de deugdelijkheid en reproduceerbaarheid, met inbegrip van de specificiteit, de nauwkeurigheid en de precisie van de toegepaste methodes aan te tonen. (De studie van het tijdsverloop waarbinnen de farmacodynamische effecten plaatsvinden kan wellicht dienstige aanvullende gegevens opleveren).

Wanneer gebruik wordt gemaakt van gemerkte geneesmiddelen, mag niet uit het oog worden verloren dat de waarden die in de lichaamsvochten worden gemeten niet noodzakelijkerwijze overeenstemmen met die van het niet-gemerkte geneesmiddel, maar gemerkte biotransformatieprodukten en conjugaten kunnen omvatten. Ook de mogelijkheid van isotoopuitwisseling met endogene verbindingen mag niet uit het oog worden verloren.

4. DIERSOORTEN

Voor deze studies dienen zoveel mogelijk dezelfde diersoorten te worden gebruikt als die waarbij in de laboratoria doorgaans de farmacologische en toxicologische onderzoekingen worden verricht. Indien een andere diersoort wordt gekozen, moeten de redenen daarvoor worden opgegeven.

Een preliminaire studie van de kinetiek en de biotransformatie van het geneesmiddel bij enkele proefpersonen kan dienstige aanwijzingen opleveren voor de keuze van de diersoort die voor de toxiciteitsstudies met herhaalde toediening dient te worden gebruikt.

5. TOEDIENING VAN HET GENEESMIDDEL

De toegediende doses van het geneesmiddel en de toedieningswegen dienen zoveel mogelijk verband te houden met het voorgestelde klinische gebruik van het geneesmiddel. Bij de selectie van de toedieningswegen moet erop worden toegezien dat bij ten minste één daarvan absorptie van het geneesmiddel plaatsvindt, indien dit relevant is voor het gebruik van het geneesmiddel bij de mens.

6. PRESENTATIE VAN DE RESULTATEN

De volgende gegevens dienen te worden verstrekt:

i) de absorptie (relatieve absorptie, kinetiek);

ii) de verspreiding in de voornaamste organen en weefsels en het tijdsverloop in de lichaamsvochten;

iii) de halveringstijd in bloed, plasma of serum;

iv) binding aan plasma-eiwit;

v) typering van het patroon van metabolieten in de excreten en waar dit enigszins mogelijk is, identificatie van belangrijke metabolieten;

vi) het tijdsverloop waarbinnen de excretie van het geneesmiddel en zijn biotransformatieprodukten plaatsvindt en de daarbij gevolgde weg;

vii) indien excretie via de gal een belangrijke uitscheidingsweg is, dient de mogelijkheid van een enterohepatische kringloop te worden onderzocht;

viii) er moet getracht worden kwantitatief verslag uit te brengen over het lot van de toegediende dosis;

ix) de mogelijkheden van enzyminductie moeten worden onderzocht. Indien enzyminductie wordt vastgesteld, moet de relevantie daarvan in de context van het voorgestelde gebruik van het geneesmiddel worden onderzocht.

7. CONCLUSIES

Uit deze studies moeten passende conclusies worden getrokken in het licht van de sub punt 1 aangegeven doelstellingen.

BIJLAGE V

VASTE COMBINATIEPRODUKTEN

Toelichting voor de toepassing van de bijlage bij Richtlijn 75/318/EEG, deel III, hoofdstuk II, onder C, punt 2, met het oog op het verlenen van de vergunning voor het in de handel brengen van een nieuw geneesmiddel

1. MOTIVERING

De aanvragers zijn gehouden hun voorstel voor een specifieke combinatie van actieve bestanddelen te motiveren. Combinatieprodukten worden alleen aanvaardbaar geacht indien de voorgestelde combinatie berust op wetenschappelijk verantwoorde therapeutische beginselen.

Voor iedere vaste combinatie moeten de potentiële voordelen in de kliniek worden afgewogen tegen eventuele nadelen, ten einde na te gaan of het produkt voldoet aan de vereisten van de normen en voorschriften inzake doeltreffendheid en veiligheid.

Potentiële voordelen van combinatieprodukten zijn onder meer:

1. verbetering van de verhouding tussen therapeutische en toxische dosis bij voorbeeld ten gevolge van de potentiëring van de therapeutische werking;

2. vereenvoudiging van de therapie, waardoor de patiënt zich er gemakkelijker aan houdt.

Nadelen van combinatieprodukten zijn onder meer:

1. het feit dat zelfs een combinatie die voldoet aan de behoefte van de gemiddelde patiënt, zelden optimaal aansluit bij de individuele behoeften;

2. cumulatie van ongewenste werkingen.

Combinaties kunnen, in beginsel, niet als rationeel worden beschouwd, indien de verblijf- en/of werkingsduur van de afzonderlijke bestanddelen duidelijk verschillen, hetgeen echter niet steeds van toepassing is wanneer kan worden aangetoond dat de combinatie ondanks verschillen in dit opzicht klinisch van belang is: wanneer bij voorbeeld één bestanddeel bestemd is om de absorptie van het andere te vergemakkelijken of wanneer het de bedoeling is dat de bestanddelen hun werking achtereenvolgens ontplooien.

Het opnemen van een stof ter bestrijding van een hinderlijke bijwerking van een van de andere bestanddelen kan als gewettigd worden beschouwd, maar alleen indien de hinderlijke bijwerking regelmatig optreedt.

Het opnemen van een bestanddeel met de bedoeling onprettige bijwerkingen te veroorzaken ter vermijding van misbruik, is ongewenst.

Stoffen met een kritisch doseringsspectrum of een nauwe therapeutische marge komen doorgaans niet in aanmerking om te worden opgenomen in combinatieprodukten.

2. INDICATIES

De indicaties die worden afgegeven voor een combinatieprodukt moeten van dien aard zijn dat de aanwezigheid van elk bestanddeel voor elk van de indicaties is gerechtvaardigd. Het produkt moet zo zijn samengesteld dat dosis en aandeel van ieder bestanddeel geschikt zijn voor alle aanbevolen indicaties.

Uiteraard dient een „indicatie" een duidelijk herkenbaar ziektebeeld, een disfunctionele toestand, een syndroom of een pathologische entiteit te vormen. De afzonderlijke bestanddelen van een combinatieprodukt kunnen bestemd zijn voor de gelijktijdige behandeling van verschillende symptomen van een dergelijk ziektebeeld, maar het zou onjuist zijn elk afzonderlijk symptoom als indicatie voor het combinatieprodukt te beschouwen, aangezien dat ook bij andere ziekten kan optreden en voor de behandeling van alleen dit symptoom de overige bestanddelen irrelevant kunnen zijn.

3. VEILIGHEID EN DOELTREFFENDHEID

Er mag een onderscheid worden gemaakt tussen de omvang van enerzijds de studies die vereist zijn in het geval van combinatieprodukten die nauw verwant zijn met combinaties die reeds op grote schaal worden verspreid, mits hierover voldoende en betrouwbare gegevens beschikbaar zijn, en anderzijds de studies die vereist zijn in het geval van combinatieprodukten welke wezenlijk nieuw zijn (omdat de betrokken geneesmiddelen in de regel niet worden gecombineerd, omdat de kwantitatieve samenstelling ongebruikelijk is of omdat een van de actieve bestanddelen geheel nieuw is).

Het veiligheidsonderzoek met dierproeven voor combinatieprodukten zou in de regel moeten plaatsvinden met de actieve bestanddelen in de verhouding waarin deze ook in het produkt aanwezig zijn. Dergelijke studies zijn niet vereist wanneer alle bestanddelen op grote schaal en veilig op de mens werden toegepast in dezelfde of goed vergelijkbare combinaties over een lange periode en wanneer de veiligheid van dergelijke combinaties duidelijk uit de literatuur blijkt.

Zowel de doeltreffendheid als de veiligheid van combinatieprodukten moeten zijn onderzocht bij de mens. Voor erkende combinatieprodukten kan in sommige gevallen worden volstaan met gefundeerde literatuurgegevens. Nieuwe combinatieprodukten moeten in de kliniek worden getest ten einde na te gaan welke rol door elk afzonderlijk bestanddeel in het geheel wordt gespeeld.

4. WISSELWERKINGEN

De mogelijkheid dat de bestanddelen onderling op elkaar inwerken dient steeds in het oog te worden gehouden. Waar wisselwerkingen van farmaceutische, farmacokinetische of farmacodynamische aard mogelijk lijken, dient de aanvrager steeds gegevens over te leggen waaruit blijkt dat een dergelijke wisselwerking zich niet voordoet, dan wel dat deze duidelijk is onderkend en omschreven.

5. ONGUNSTIGE BIJWERKINGEN

Indien er redenen aanwezig zijn om aan te nemen dat een combinatieprodukt aanzienlijk schadelijker is of vaker ongunstige bijwerkingen veroorzaakt dan één van de actieve bestanddelen indien afzonderlijk toegediend, moet de aanvrager aantonen dat zulks zich bij therapeutische toepassing niet voordoet of dat de voordelen van het combinatieprodukt, bij voorbeeld grotere doeltreffendheid, belangrijker zijn dan dergelijke nadelen.

6. DOSERING

Het combinatieprodukt moet over het gehele aanbevolen doseringsspectrum veilig en doeltreffend zijn.

7. GECOMBINEERDE VERPAKKINGEN

De beginselen die van toepassing zijn op combinatieprodukten, worden eveneens toegepast bij de beoordeling van preparaten die uit verschillende geneeskundige produkten bestaan welke in gecombineerde verpakkingen worden afgeleverd, waarbij het de bedoeling is dat de produkten gelijktijdig of in een bepaalde volgorde worden toegediend.

8. CHEMISCHE COMBINATIES EN COMPLEXEN

Stoffen van dit type die, alvorens te worden geabsorbeerd, in twee of meer actieve bestanddelen uiteenvallen, kunnen voor de toepassing van bovenstaande bepalingen worden beschouwd als combinatieprodukten van deze bestanddelen en niet als chemische entiteiten.