

Toxicologie réglementaire

La sécurité sanitaire en F

- Médicament
- Cosmétique
- Additif alimentaire
- Produit Phytosanitaire
- Produit chimique
- Dispositif médical

Pour chaque catégorie de produits :
réglementation propre
et
un niveau d'études \neq

Pour le MÉDICAMENT :



LIGNES DIRECTRICES



www.ich.org

SAFETY



- S1 Cancérogenèse**
- S2 Génotoxicité**
- S3 Toxicocinétique et pharmacocinétique**
- S4 Toxicité réitérée**
- S5 Fonctions de reproduction**
- S6 Produits de biotechnologies**
- S7 Pharmacologie de sécurité*
- S8 Immunotoxicité**
- S9 Evaluation des Agents anticancéreux**
- S10 Photosensibilisation**
- S11 Médicaments pédiatriques**
- S12 Produits de thérapie génique**

MULTIDISCIPLINARY TOPICS



- M3 Etudes non cliniques de sécurité**
- M7 Impuretés génotoxiques**
- M4 CTD**

QUALITY



- Q3 Impuretés**

PROTOCOLES

Protocoles OCDE :

Lignes directrices pour les essais de produits chimiques

Section 4: Health Effects

https://www.oecd-ilibrary.org/fr/environment/lignes-directrices-de-l-ocde-pour-les-essais-de-produits-chimiques-section-4-effets-sur-la-sante_20745842/datedesc#collectionsort

- Essai n° 401: Toxicité orale aiguë Essai n° 402: Toxicité cutanée aiguë
Essai n° 403: Toxicité aiguë par inhalation Essai n° 404: Effet irritant/corrosif aigu sur la peau
Essai n° 405: Effet irritant/corrosif aigu sur les yeux Essai n° 406: Sensibilisation de la peau
Essai n° 407: Toxicité orale à doses répétées - pendant 28 jours sur les rongeurs
Essai n° 408: Toxicité orale à doses répétées - rongeurs: 90 jours Essai n° 409: Toxicité orale à doses répétées /non-rongeurs: 90 jours
Essai n° 410: Toxicité cutanée à doses répétées: 21/28 jours Essai n° 411: Toxicité cutanée subchronique: 90 jours
Essai n° 412: Toxicité à doses répétées par inhalation: 28/14 jours Essai n° 413: Toxicité subchronique par inhalation: 90 jours
Essai n° 414: Étude de la toxicité pour le développement prénatal
Essai n° 415: Étude de toxicité pour la reproduction sur une génération
Essai n° 416: Étude de toxicité pour la reproduction sur deux générations
Essai n° 417: Toxicocinétique
Essai n° 420: Toxicité orale aiguë - Méthode de la dose prédéterminée
Essai n° 421: Essai de dépistage de la toxicité pour la reproduction et le développement
Essai n° 422: Étude combinée de toxicité à doses répétées et de dépistage de la toxicité pour la reproduction et le développement
Essai n° 423: Toxicité orale aiguë - Méthode par classe de toxicité aiguë
Essai n° 424: Étude de neurotoxicité
Essai n° 425: Toxicité aiguë par voie orale: méthode de l'ajustement
Essai n° 427: Absorption cutanée : méthode in vivo Essai n° 428: Absorption cutanée : méthode in vitro
Essai n° 429: Sensibilisation cutanée: Essai des ganglions lymphatiques locaux
Essai n° 430: Corrosion cutanée in vitro : Essai de méthode de toxicité transcutanée (RET)
Essai n° 431: Corrosion cutanée in vitro :Essai de méthode de toxicité transcutanée (RET) sur peau humaine
Essai n° 432: Essai de phototoxicité in vitro
Essai n° 435 : Méthode d'essai in vitro de mesure de l'étanchéité pour la corrosion cutanée
Essai n° 451: Études de carcinogénicité
Essai n° 452: Études de mutagenèse
Essai n° 453: Études combinées de toxicité chronique et de cancérogénèse
Essai n° 471: Essai de mutation réverse sur des bactéries
Essai n° 473: Essai d'aberration chromosomique in vitro chez les mammifères
Essai n° 474: Le test de micronoyaux sur les érythrocytes de mammifères
Essai n° 475: Essai d'aberration chromosomique sur moelle osseuse de mammifères
Essai n° 476: Essai in vitro de mutation génique sur des cellules de mammifères
Essai n° 479: Toxicologie génétique: Essai in vitro d'échange de chromatides-soeurs sur cellules de mammifère
Essai n° 480: Toxicologie génétique: Saccharomyces cerevisiae, essai de mutation génique
Essai n° 482: Toxicologie génétique: Lésion et réparation d'ADN - Synthèse non programmée de l'ADN (UDS) sur cellules de mammifère
Essai n° 483: Toxicologie génétique: Essai cytogénétique sur cellules germinales de mammifère
Essai n° 484: Toxicologie génétique: Spot test chez la souris
Essai n° 486: Essai de synthèse non programmée de l'ADN (UDS) sur des hépatocytes de mammifères in vivo

I

**Introduction générale
à l'évaluation de la
sécurité**

2 Etapes :

① Identification du **DANGER** (*Hazard*)

Construire un **profil toxicologique**

= **CARTE d'IDENTITE** toxicologique de la substance

⇒ Mesurer les **effets toxiques** et à quelle **dose**,

⇒ Identifier dose **chez A** en dessous de laquelle pas de toxicité

Etudes expérimentales :

études sur des modèles *in vivo*, *in vitro*...

PRODUITS CHIMIQUES

J'EXPLOSE

Il peut exploser, surtout le cas de contact d'une flamme, d'une étincelle, d'un feu nu, d'un feu de soudure, d'un feu de chalumeau, d'un feu de brasier, d'un feu de braise, d'un feu de charbon, d'un feu de bois, d'un feu de paille, d'un feu de papier, d'un feu de tissu, d'un feu de laine, d'un feu de cuir, d'un feu de caoutchouc, d'un feu de plastique, d'un feu de métal, d'un feu de verre, d'un feu de céramique, d'un feu de bois, d'un feu de papier, d'un feu de tissu, d'un feu de laine, d'un feu de cuir, d'un feu de caoutchouc, d'un feu de plastique, d'un feu de métal, d'un feu de verre, d'un feu de céramique.



JE FLAMBE

Il peut s'enflammer, surtout le cas de contact d'une flamme, d'une étincelle, d'un feu nu, d'un feu de soudure, d'un feu de chalumeau, d'un feu de brasier, d'un feu de braise, d'un feu de charbon, d'un feu de bois, d'un feu de papier, d'un feu de tissu, d'un feu de laine, d'un feu de cuir, d'un feu de caoutchouc, d'un feu de plastique, d'un feu de métal, d'un feu de verre, d'un feu de céramique.



JE FAIS FLAMBER

Il peut provoquer un incendie, surtout le cas de contact d'une flamme, d'une étincelle, d'un feu nu, d'un feu de soudure, d'un feu de chalumeau, d'un feu de brasier, d'un feu de braise, d'un feu de charbon, d'un feu de bois, d'un feu de papier, d'un feu de tissu, d'un feu de laine, d'un feu de cuir, d'un feu de caoutchouc, d'un feu de plastique, d'un feu de métal, d'un feu de verre, d'un feu de céramique.



JE SUIS SOUS PRESSION

Il peut exploser, surtout le cas de contact d'une flamme, d'une étincelle, d'un feu nu, d'un feu de soudure, d'un feu de chalumeau, d'un feu de brasier, d'un feu de braise, d'un feu de charbon, d'un feu de bois, d'un feu de papier, d'un feu de tissu, d'un feu de laine, d'un feu de cuir, d'un feu de caoutchouc, d'un feu de plastique, d'un feu de métal, d'un feu de verre, d'un feu de céramique.



JE RONGE

Il peut provoquer des brûlures, surtout le cas de contact d'une flamme, d'une étincelle, d'un feu nu, d'un feu de soudure, d'un feu de chalumeau, d'un feu de brasier, d'un feu de braise, d'un feu de charbon, d'un feu de bois, d'un feu de papier, d'un feu de tissu, d'un feu de laine, d'un feu de cuir, d'un feu de caoutchouc, d'un feu de plastique, d'un feu de métal, d'un feu de verre, d'un feu de céramique.



JE TUE

Il est mortel, surtout le cas de contact d'une flamme, d'une étincelle, d'un feu nu, d'un feu de soudure, d'un feu de chalumeau, d'un feu de brasier, d'un feu de braise, d'un feu de charbon, d'un feu de bois, d'un feu de papier, d'un feu de tissu, d'un feu de laine, d'un feu de cuir, d'un feu de caoutchouc, d'un feu de plastique, d'un feu de métal, d'un feu de verre, d'un feu de céramique.



J'ALTÈRE LA SANTÉ

Il est dangereux pour la santé, surtout le cas de contact d'une flamme, d'une étincelle, d'un feu nu, d'un feu de soudure, d'un feu de chalumeau, d'un feu de brasier, d'un feu de braise, d'un feu de charbon, d'un feu de bois, d'un feu de papier, d'un feu de tissu, d'un feu de laine, d'un feu de cuir, d'un feu de caoutchouc, d'un feu de plastique, d'un feu de métal, d'un feu de verre, d'un feu de céramique.



JE NUIS GRAVEMENT À LA SANTÉ

Il est très dangereux pour la santé, surtout le cas de contact d'une flamme, d'une étincelle, d'un feu nu, d'un feu de soudure, d'un feu de chalumeau, d'un feu de brasier, d'un feu de braise, d'un feu de charbon, d'un feu de bois, d'un feu de papier, d'un feu de tissu, d'un feu de laine, d'un feu de cuir, d'un feu de caoutchouc, d'un feu de plastique, d'un feu de métal, d'un feu de verre, d'un feu de céramique.



JE POLLUE

Il est dangereux pour l'environnement, surtout le cas de contact d'une flamme, d'une étincelle, d'un feu nu, d'un feu de soudure, d'un feu de chalumeau, d'un feu de brasier, d'un feu de braise, d'un feu de charbon, d'un feu de bois, d'un feu de papier, d'un feu de tissu, d'un feu de laine, d'un feu de cuir, d'un feu de caoutchouc, d'un feu de plastique, d'un feu de métal, d'un feu de verre, d'un feu de céramique.



pictogrammes de danger

Étiquetage des produits chimiques

Information pour les utilisateurs :

- Pictogramme,
- Phrases de risque

DesTop
DESODORANT SURPASSANT

DANGER
Produit corrosif.
Contient de l'hydroxyde de sodium (base caustique) solution 20%.

Précautions de grande lecture:
• Couvrir avec soin et à l'abri de la lumière les parties des enfants.
• Éviter l'accès aux enfants en cas de traitement.
• Ne pas transpirer. Ne pas utiliser de récipient intermédiaire (verre, bocal...) lors de l'utilisation ou du stockage.

1. Ne pas risquer de laisser le récipient vide. Le rincer avant de le jeter.
2. En cas de contact avec les yeux ou la peau, laver immédiatement et abondamment avec de l'eau pendant au moins 15 minutes et consulter un spécialiste.
3. En cas d'accident ou de malaise, sans aller immédiatement un médecin (si possible lui montrer l'étiquette).
4. Porter un vêtement de protection approprié.
5. Porter des gants appropriés et un appareil de protection des yeux et du visage.

① Identification du DANGER (*Hazard*)

② Puis Evaluation du RISQUE (*Risk*)

⇒ Probabilité de survenue du danger chez H ds les conditions d'utilisation (dose , voie, durée d'exposition...)

↳ doses max, mesures de préver  ➔ 

≠ *Principe de précaution* : risque mal connu ou non identifié

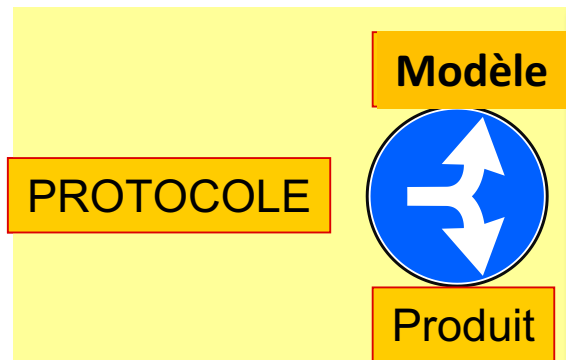


II Evaluation du danger

II-1 : Présentation générale

II-2 : Les différentes études de toxicologie

Schéma général des études : 2 acteurs



1- Le PRODUIT

Il doit être **caractérisé** : Certificat d'analyse

► Physico-chimie

Structure chimique, PM, caractères stéréochimiques (isomères, énantiomères, racémiques, chiralité, etc.)

Sel

Identification (spectre IR, RMN, etc.), Spectre UV --> Phototoxicité

Stabilité → Conditions de stockage

T° , photosensibilité , Produit(s) de dégradation

Solubilité

► IMPURETÉS

Catalyseurs (métaux)

Solvants résiduels

Intermédiaires de synthèse

ICH Q3

Leurs valeurs respectives doivent être connues et impérativement identifiées (structure) ou éventuellement **QUALIFIÉES** sur un plan toxicologique



acquisition et évaluation des données qui attestent de l'innocuité

Impuretés génotoxiques

ICH M7

2- LE MODÈLE = moyen

qualité et limites ➡ **extrapolation à H pertinente**

✓ animal de laboratoire (*étude in vivo*) : rongeurs / non rongeurs



= ce sont des études *non cliniques*

Choix espèce PERTINENT pr extrapolation à l' H

Ex : Critères de choix :

Souche bien établie

Proximité physiologique, anatomique

↳ **prédictive** : ex : *biotransformation*

Facilité de manipulation,

Fécondité, rapidité de reproduction

Prise et volume d'échantillons biologiques

....

Pour l'étude :

Sain : sans pathologie

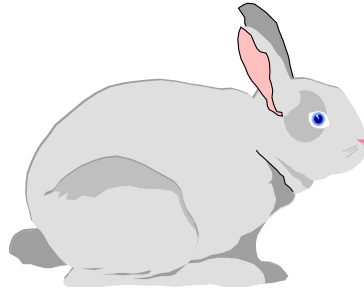
Sexe : mâle et femelle

Nombre : suffisant

Problème éthique !!!

Règle des 3 « R »

Russel et Burch (1959)



RAFFINER

REDUIRE

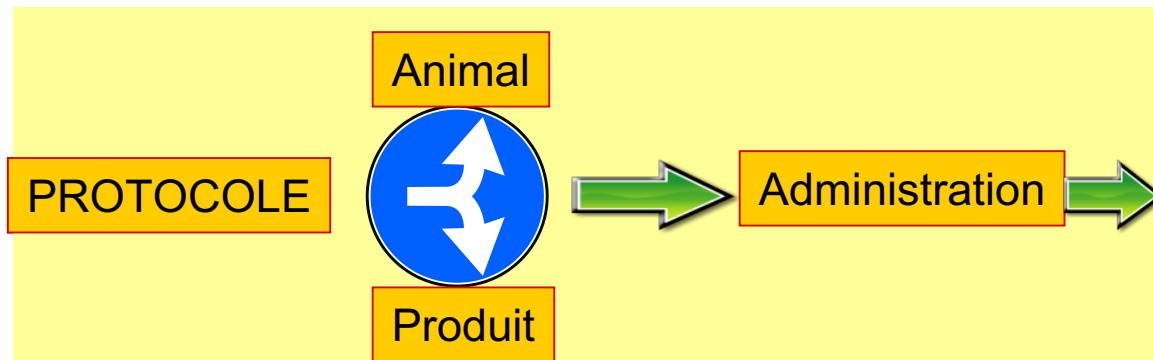
REEMPLACER



Méthodes *in vivo*
Méthodes *ex vivo*
Méthodes *in vitro*
Méthodes *in chemico*
Méthodes *in silico*

Les méthodes alternatives à l'utilisation de l'animal de laboratoire

Schéma général des études :

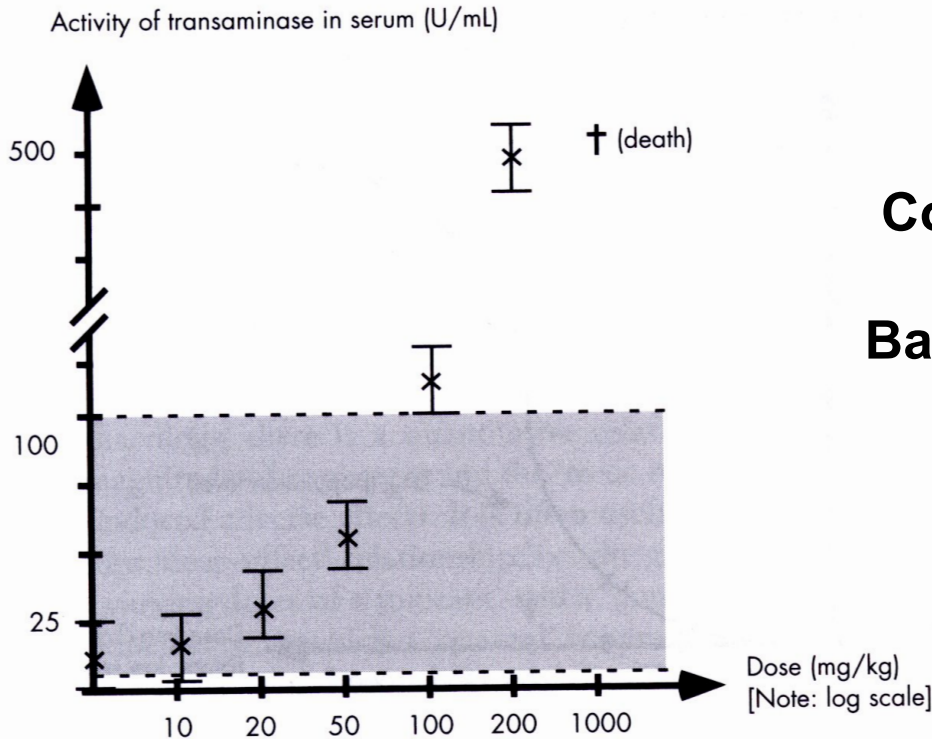


L'administration = TRAITEMENT (cas des études *in vivo*)

- Doses :

Il faut un lien de causalité entre l'effet observé et le produit testé

➔ EFFET / DOSE



Concept fondamental en toxicologie
Basé sur les données expérimentales

± lot témoin
min 3 lots traités

Dose : mg/kg pc

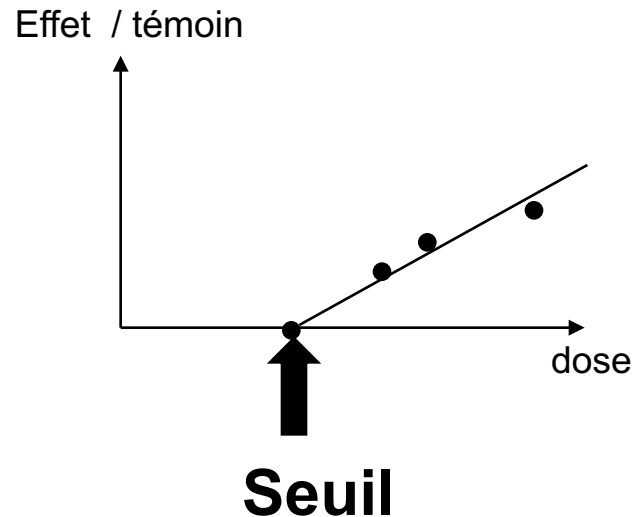
Dose Maximale Tolérée (MTD)

- ▶ *La plus forte dose qui n'affecte pas la durée de vie normale d'un animal indépendamment d'effets liés à un processus cancérigène « normal »*
- ▶ *Dose induisant une baisse du poids corporel <10% sans produire de la mortalité, des signes cliniques et/ou biologiques associés qui pourraient réduire la durée de vie des animaux [le plus souvent définie à partir des études préliminaires de 3 mois]*

LA NOTION DE SEUIL (*threshold*)

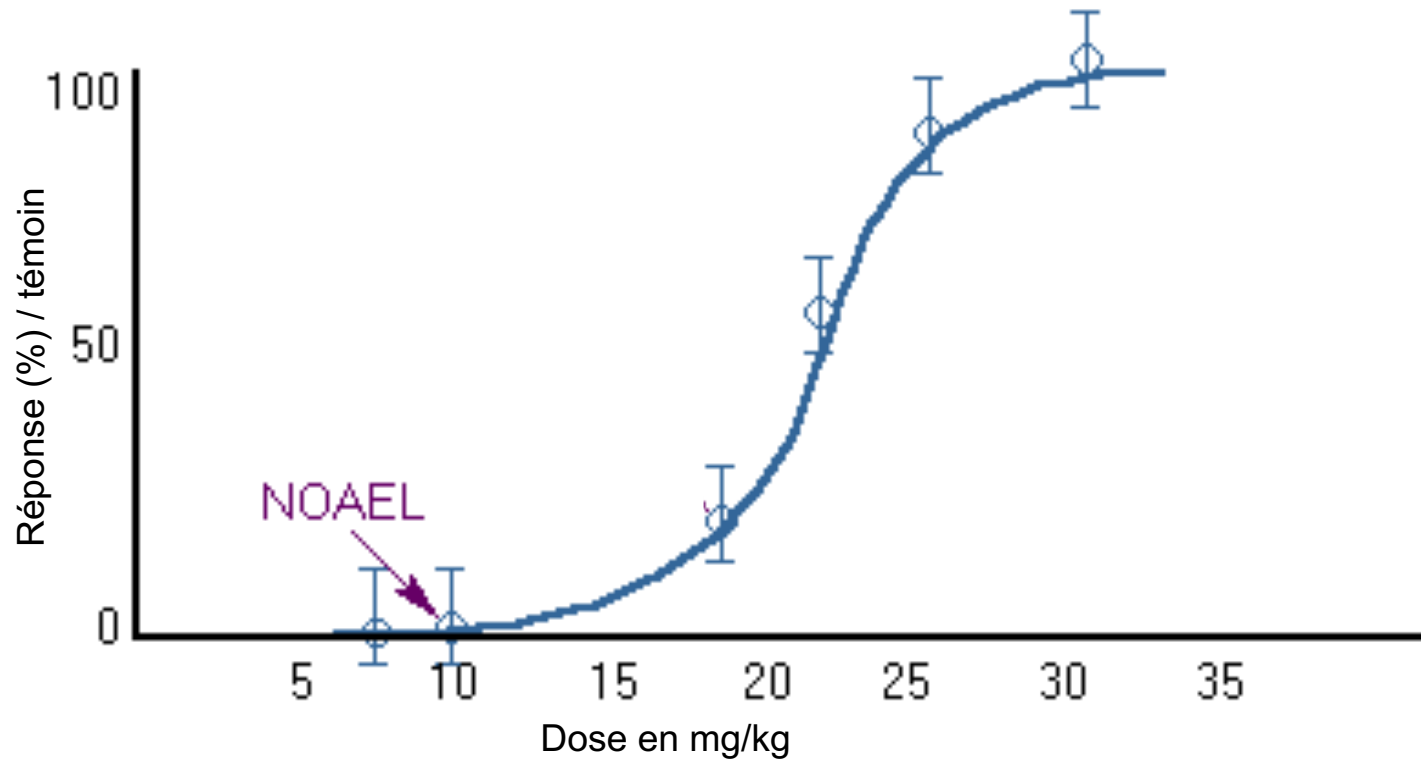
Un seuil pour un **effet néfaste** apparaît si, en dessous d'une certaine dose, l'organisme est capable de :

- détoxifier le toxique
- ou de réparer l'effet toxique

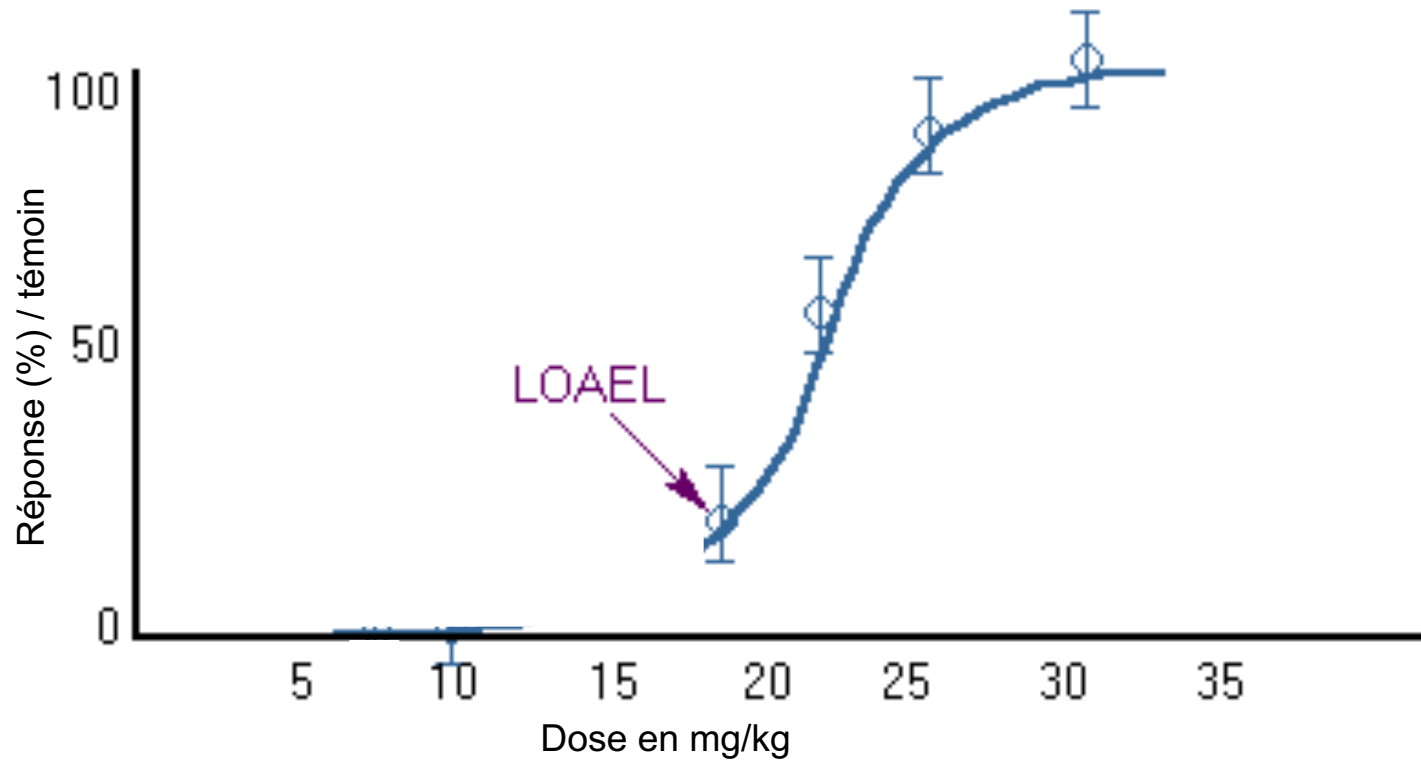


No Observed Adverse Effect Level : NOAEL

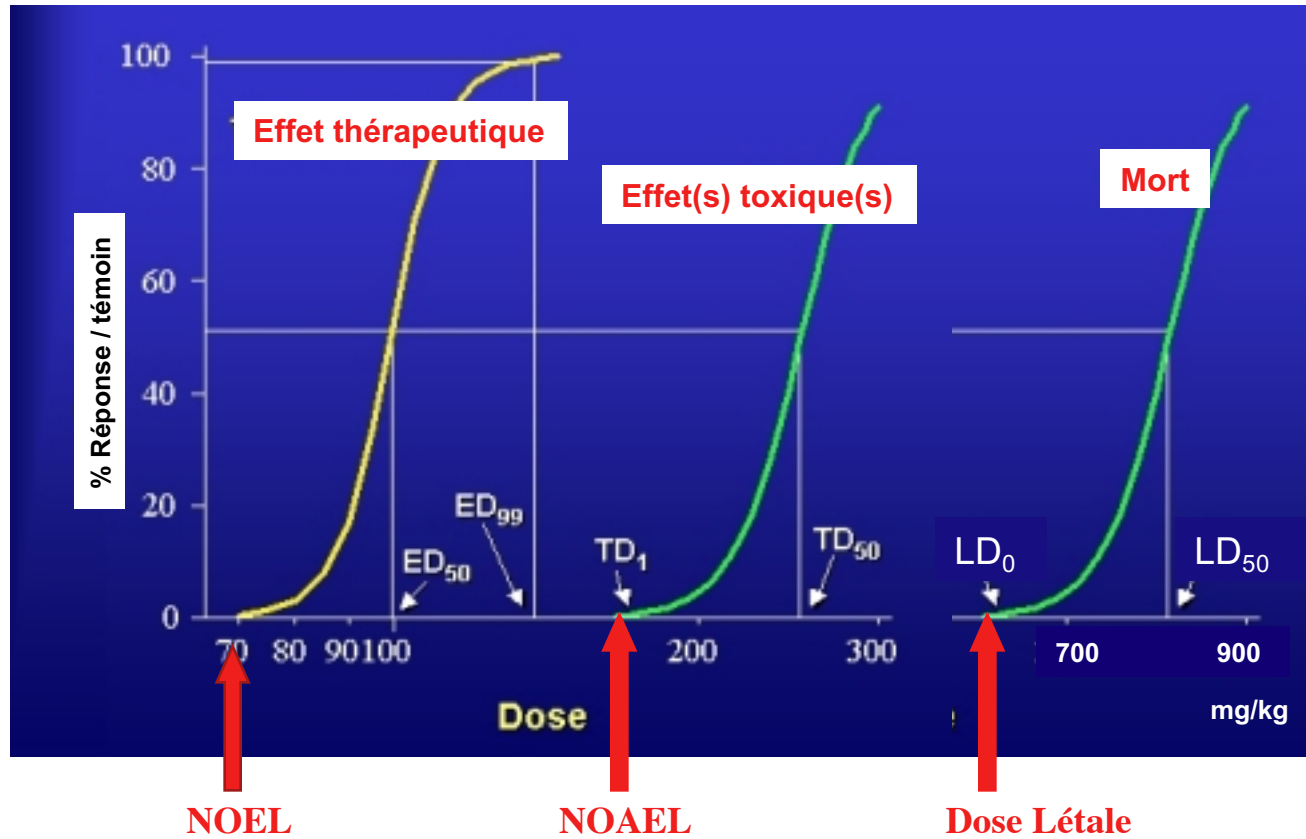
Dose sans effet toxique



Lowest Observed Adverse Effect Level : LOAEL



NOAEL *versus* NOEL

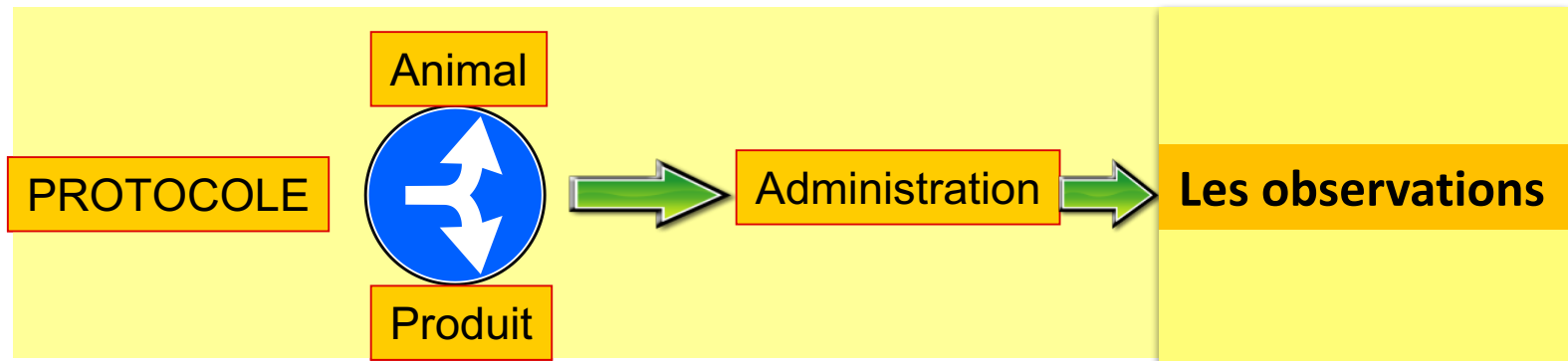


- doses
- voie d'exposition *in vivo* : systémique et/ou voie d'usage
- durée/fréquence du traitement

in vivo :

| | Fréquence d'administration | Durée |
|---------------------|----------------------------|--------------------------------------|
| AIGUË | Unique | ≤ 24 heures (<i>voie !</i>) |
| SUBAIGUË | Répétée (7j/7) | ≤ 1 mois |
| SUBCHRONIQUE | <i>Répétée (7j/7)</i> | <i>entre 1 et 3 mois</i> |
| CHRONIQUE | Répétée (7j/7) | ≥ 3 mois |

Schéma général des études :



Les OBSERVATIONS

= *Toute manifestation observable au niveau de l'organisme vivant étudié et attribuable au pdt administré ds des conditions expérimentales contrôlées.*

Quand ? délai de réponse

Observations :

Poids
Consommation alimentaire, hydrique...

Symptomatologie

Analyses biologiques

Altérations fonctionnelles
Examens paracliniques (NB : fond d'œil).....

Autopsie Observations macroscopiques
 Anatomopathologie

Effets toxiques

+ **toxicocinétique => AUC, t_{max}**

Exemples d'atteintes aiguës observée sur différents organes :

| Organes et fonctions | Fonctions/territoires explorés | Signes habituellement recherchés |
|---------------------------|----------------------------------|--|
| Système nerveux central | Comportement | Changement d'attitude, sédation et vocalisation |
| | Mouvement | Tremblement, ataxie, catatonie, paralysie et/ou convulsions |
| | Réaction aux stimuli | Irritabilité, passivité, anesthésie, antalgie et hyperesthésie |
| | Réflexes cérébro-spinaux | Exacerbation ou disparition |
| Système nerveux végétatif | Tonus musculaire | Rigidité ou flaccidité |
| | Taille des pupilles | Myosis ou mydriase |
| Fonction respiratoire | Sécrétion | Salivation, larmoiement |
| | Nez | Jetage |
| | Fréquence respiratoire | Bradypnée, dyspnée |
| Fonction cardiaque | Type de la dyspnée | Cheyne-Stokes |
| | Palpation de la région cardiaque | Bradychardie, arythmie, choc précordial, fibrillation |
| Fonction digestive | Estomac | Vomissements |
| | Transit | Diarrhée ou constipation. |
| | Parois abdominales | Flatulence ou contraction |
| Tractus génito-urinaire | Fécès | Molles, noires, claires, sanglantes |
| | Vulve, mamelle | Prolapsus, oedème |
| Phanères | Région périnéale | Souillée |
| | Pelage | Hérissément, couleur modifiée |

Les OBSERVATIONS

= Toute manifestation observable au niveau de l'organisme vivant étudié et attribuable au pdt administré ds des conditions expérimentales contrôlées.

Quand ? délai de réponse

Observations :

Poids

Consommation alimentaire, hydrique...

Symptomatologie

Analyses biologiques

Altérations fonctionnelles

Examens paracliniques (NB : fond d'œil).....

Autopsie Observations macroscopiques

 Anatomopathologie

Effets toxiques

+ **toxicocinétique => AUC, t_{\max}**

Réversible ?

Les OBSERVATIONS

Quand ? délai de réponse

Observations :

Poids

Consommation alimentaire, hydrique...

Symptomatologie

Analyses biologiques

Altérations fonctionnelles

Examens paracliniques (NB : fond d'œil).....

Autopsie Observations macroscopiques
 Anatomopathologie

+ **toxicocinétique** => **AUC, t_{max}**

Réversible ?

= Toute manifestation observable au niveau de l'organisme vivant étudié et attribuable au pdt administré ds des conditions expérimentales contrôlées.

Effets toxiques

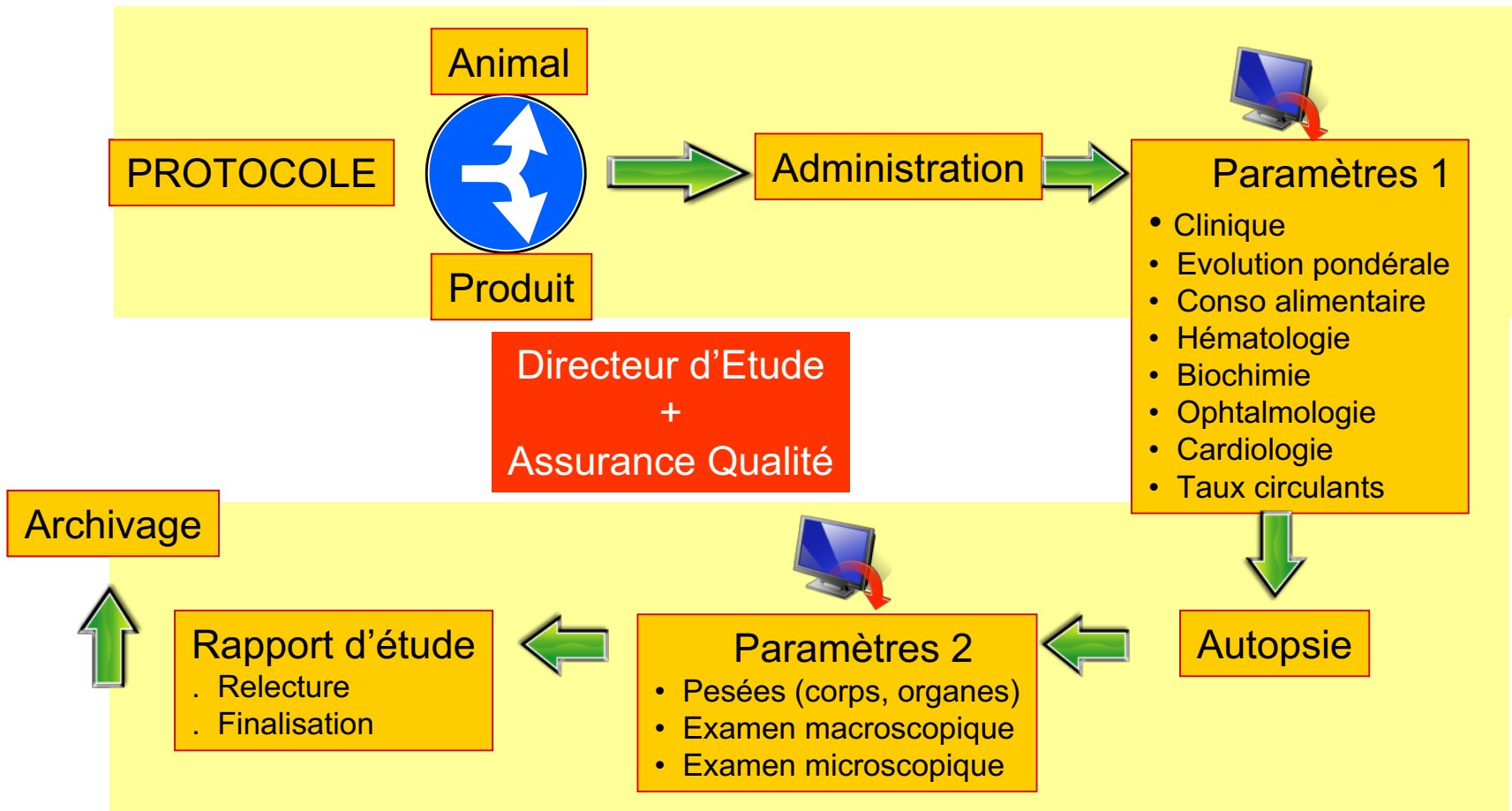


Analyse statistique des données

Lots traités / Lot témoin
A son propre témoin

Mécanisme(s) d' action
organe(s) cible(s)
NOAEL

Schéma général des études :



II

Evaluation du danger

II-1 : Présentation générale

II-2 : Les différentes études de toxicologie

2 GRANDS TYPES D'ÉTUDE

Etudes de toxicologie générale

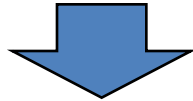
Etudes spécifiques

Etudes validées codifiées
BPL

Toxicologie générale

Objectifs :

✓ Identification des effets néfastes et des organes cibles, à quelle dose



✓ Détermination des doses sans effet (**NOAEL**)
marges de sécurité → risque chez H



✓ Extrapolation des données toxicologiques pour le **choix des 1ères doses** pour les essais cliniques chez l'Homme

Principales études non cliniques de toxicologie

Etudes de Toxicologie générale

- toxicité par administration unique : **Tox. aiguë**
- toxicité par administration réitérée

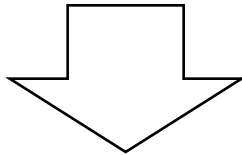
Etudes de Toxicologie spécifique

- Cancérogenèse
- Mutagenèse
- Fonctions de reproduction
- Tolérance locale

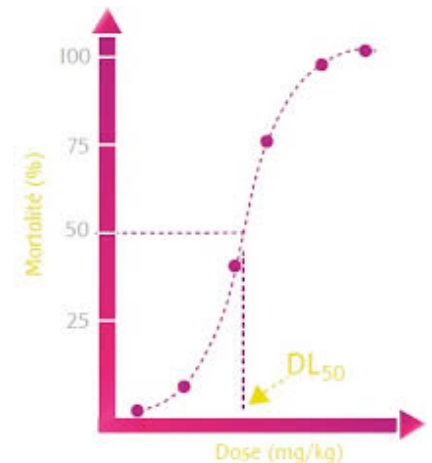
BUT : Mes des **phénomènes toxiques** qui se manifestent pendant une **période donnée (15j)** résultant d'une administration **UNIQUE** du pdt

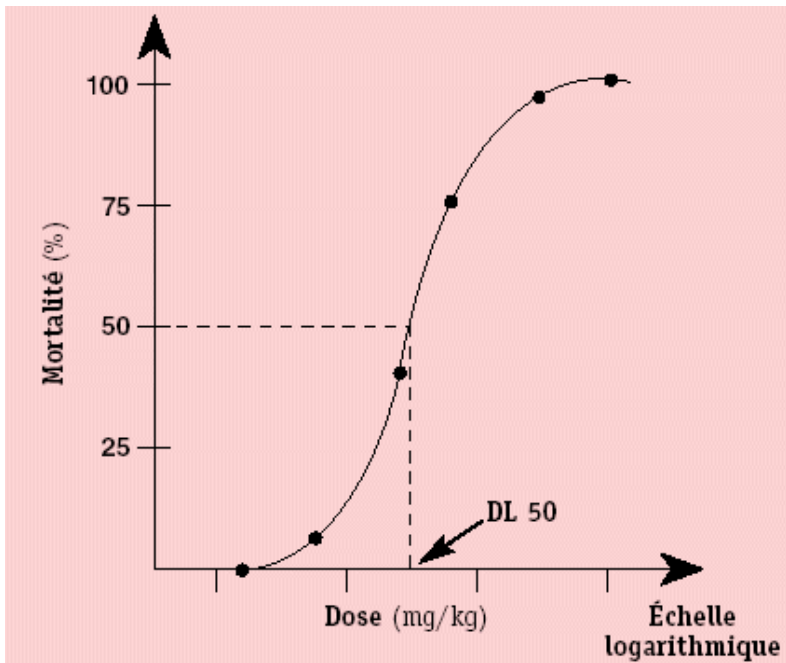


Fonction voie d'administration



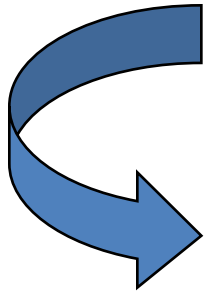
- Connaître la symptomatologie d'une exposition **massive** → CAT
- Connaître les niveaux de dose → mort
*Éventuellement : dose létale : **DL50** mg/kg*
- Niveaux de dose pour les essais ultérieurs
- Classification : Etiquetage, phrases de risque



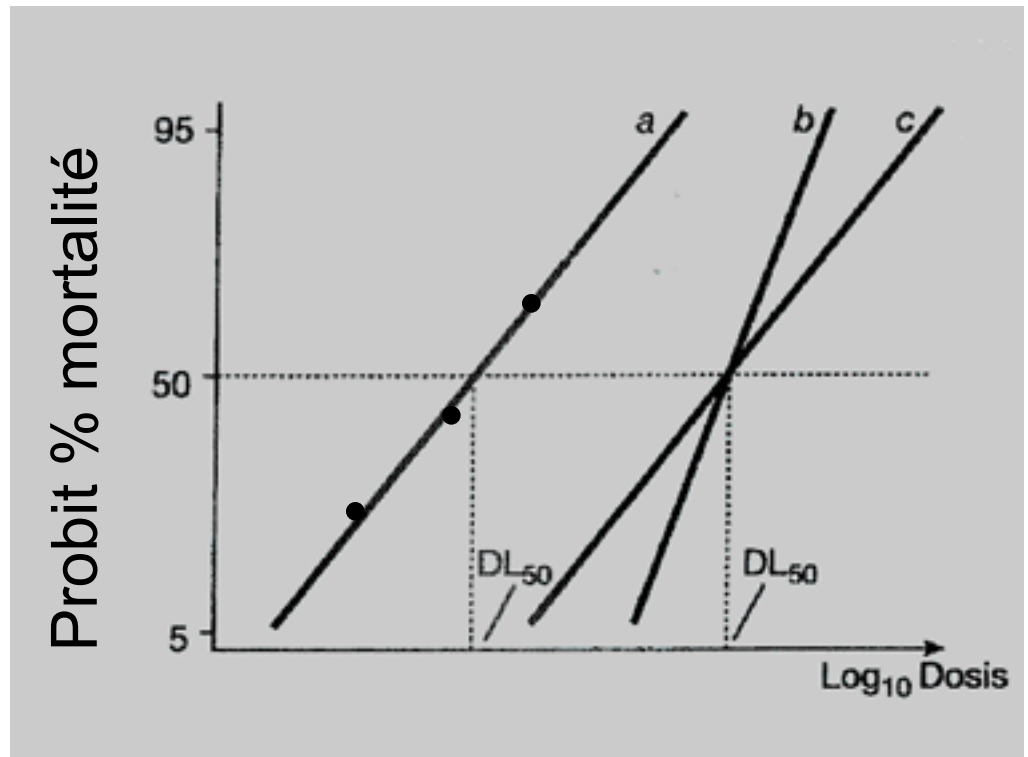


Min 5 doses

**DL50 mg/kg
spécifique d'une espèce
et d'une voie d'exposition**



Échelle probit



3 doses

5 mâles/ 5 femelles

Classification : Echelle de toxicité

| | DL 50 <i>per os</i> (mg/kg) | CL 50 inhalation (mg / litre /4h) |
|------------------------|--------------------------------|--------------------------------------|
| très toxique T+ | ≤ 25 | ≤ 0,5 |
| toxique T | 25 à 200 | 0,5 à 2 |
| nocif Xn | >200 à 2000 | >2 à 20 |

*Depuis 1/12/2010 ;
2015 pour mélanges*



+ phrases de risques :

Exemples : **R22** : nocif en cas d'ingestion, **R26** : très toxique par inhalation ,
R 28 Très toxique en cas d'ingestion

Actuellement, pour un dossier d'AMM : protocole allégé

Détermination DL50 n'est plus recommandée (éthique animale)

En pratique



Svt 1 espèce (rat)



dose min létale

Principales études non cliniques en toxicologie

Etudes de Toxicologie générale

- toxicité par administration unique
- **toxicité par administration réitérée**

Etudes de Toxicologie spécifique

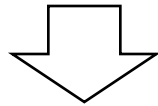
- Cancérogenèse
- Mutagenèse
- Fonctions de reproduction
- Tolérance locale

Toxicité **sub-aiguë** et **chronique**

≤ 1mois

≥ 3mois

BUT : Mes des phénomènes toxiques qui se manifestent pendant une période donnée (≥ 15j) résultant d'une administration répétée du Pdt



Mes des altérations fonctionnelles et/ou anatomo-pathologiques ➡
« organe(s) cible(s) »

Déterminer la limite d'innocuité expérimentale : NOAEL (ou le cas échéant LOAEL)



Tous les paramètres mesurés au cours des études toxicologiques sont utilisés (clinique, anatomopathologie, hématologie.....)

PROTOCOLE



• **Animal : 2 espèces : 1 rongeur (10/sexe/dose), 1 non rongeur (5/sexe/dose)**

• **+ réversibilité**

• **Dose :**

• **Voie d'administration**

• **Fréquence**

• **Durée**

• **Observations**



• **Autopsie**

• **Résultats, statistiques**



organe cible, effet/dose, effet sexe

réversibilité

NOAEL

Principales études non cliniques en toxicologie

Etudes de Toxicologie générale

- toxicité par administration unique
- toxicité par administration réitérée

Etudes de Toxicologie spécifique

Cancérogenèse

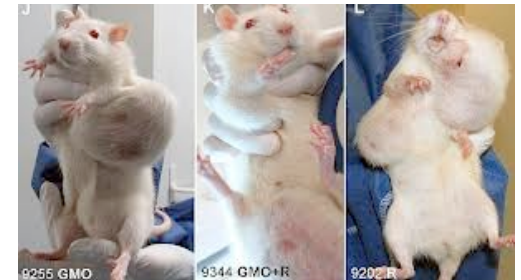
Mutagenèse

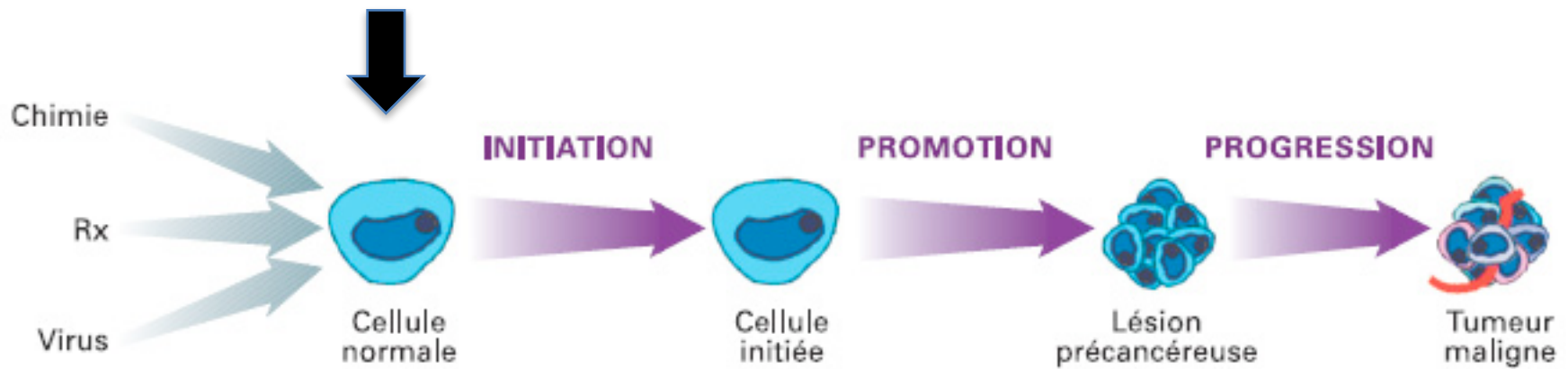
Fonctions de reproduction

Tolérance locale

BUT :

Mev des **phénomènes toxiques de type tumeurs cancéreuses** qui se manifestent pendant une période donnée (toute la vie de l' animal) résultant d' une administration répétée de la substance





Un agent cancérogène : (/ témoins)

- induit des tumeurs **non spontanées**
- ↑ l'incidence de **tumeurs spontanées**
- raccourcit le temps de latence de **tumeurs spontanées**

PROTOCOLE : étude long terme !



- Animal : 2 espèces : 2 rongeur (60/sexe/dose ; 100/sexe/lot témoin)

Tumeurs spontanées connues

- Dose : dose supérieure : dose max tolérée

- Voie d'administration

- Fréquence

- Durée : toute la vie rat : 24 mois : souris : 18 mois

- Observations : le minimum (stress !)

- Autopsie

- Résultats, statistiques

Possibilités : A transgéniques (p53) : 6 mois

Principales études non cliniques en toxicologie

Etudes de Toxicologie générale

- toxicité par administration unique
- toxicité par administration réitérée

Etudes de Toxicologie spécifique

Cancérogenèse

Mutagenèse

Fonctions de reproduction

Tolérance locale

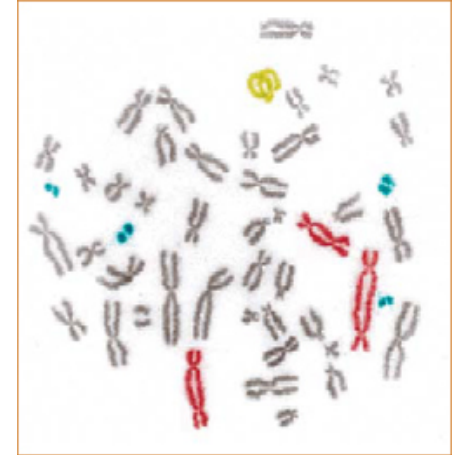
BUTS :

1. MEV des toxiques induisant des **mutations** au niveau ADN :

→ gène = **mutations géniques**

Modifications d'1 ou de plusieurs bases

→ chromosome = **mutations chromosomiques**



NB : systèmes de réparation (BER, NER...)

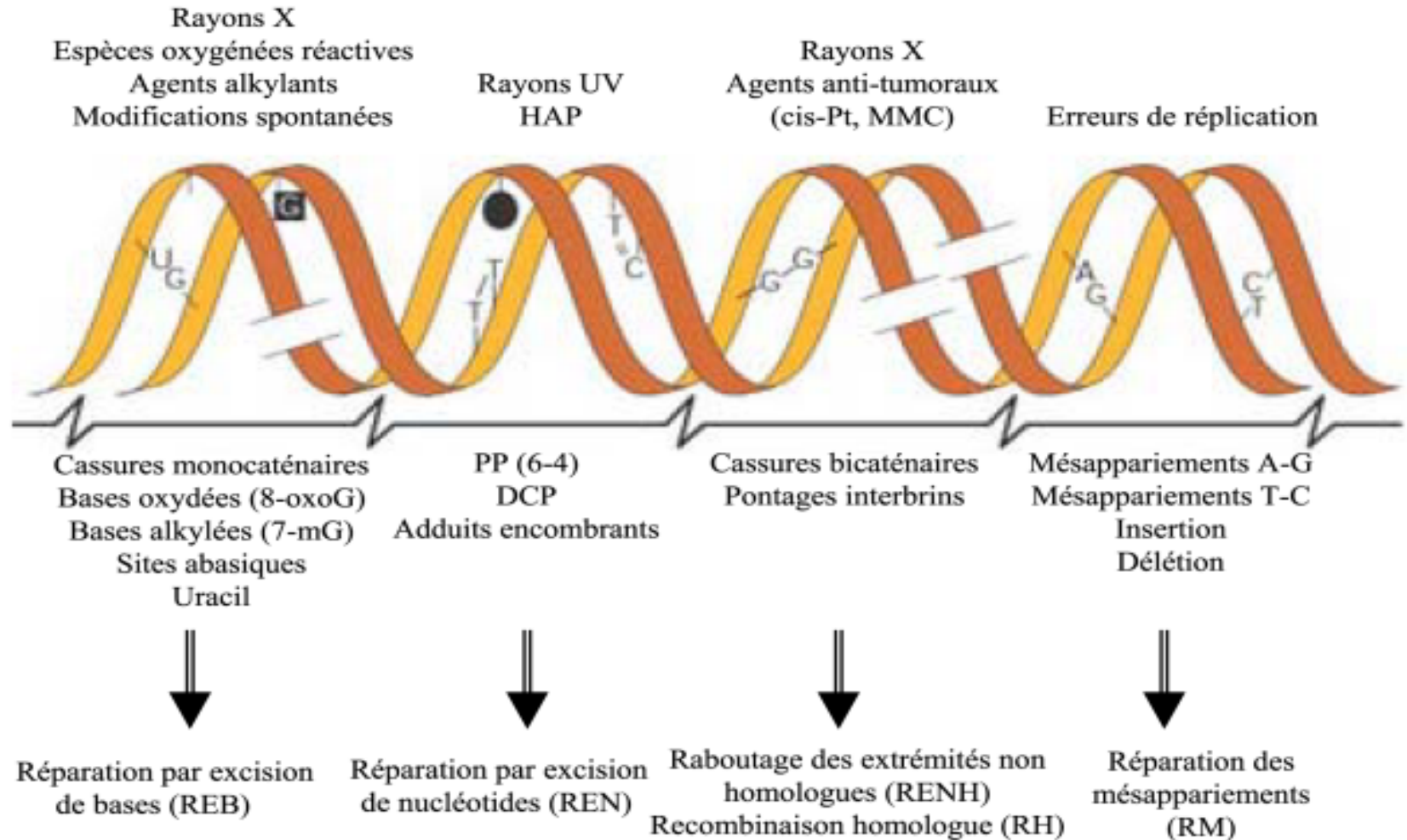
si dommage important ⇒ mort cellulaire (apoptose)

*si réparation fautive ou pas de réparation : **mutation fixée transmissible***

2. Prédicativité de la **cancérogenèse** (1ère étape) & tératogenèse



Dommages à l'ADN



Systèmes de Réparation NB: fautifs

Cancer

Stérilité
Malformations congénitales
Cancer de la descendance

Fausse couche
Mort *in utero*
Malformations congénitales



Cellules somatiques

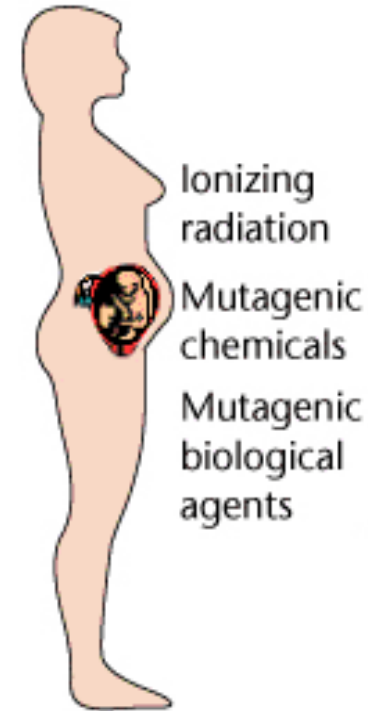
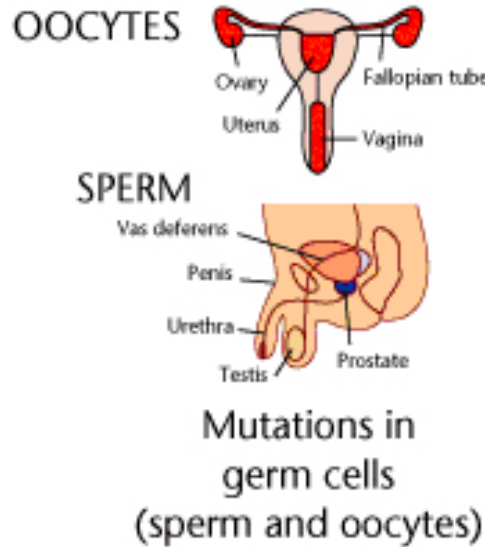
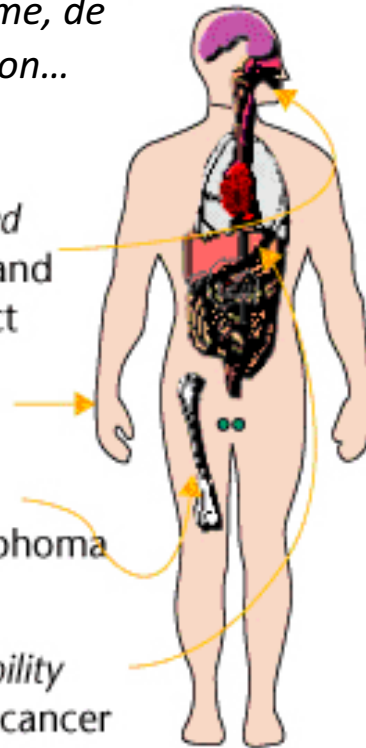
Cellules germinales

Développement
Embryon/Fœtus

Conséquences en fonction de la cellule cible

En fonction de la
voie d'exposition,
du métabolisme, de
la distribution...

- Inhaled/ingested
Cancers of GI and
respiratory tract
- Skin exposure
Skin cancer
- Systemic
Leukemia/lymphoma
- Tissue susceptibility
Aflatoxin-liver cancer
- Ionizing radiation
thyroid/breast cancer



Ionizing radiation
Mutagenic
chemicals
Mutagenic
biological
agents

Long-term effects, minutes to years

ADN/CHROMOSOME

Impact?

CHROMOSOME

GENE

REPARATION ADN

Test UDS



ALTERATION

GENE

CHROMOSOME



CANCER

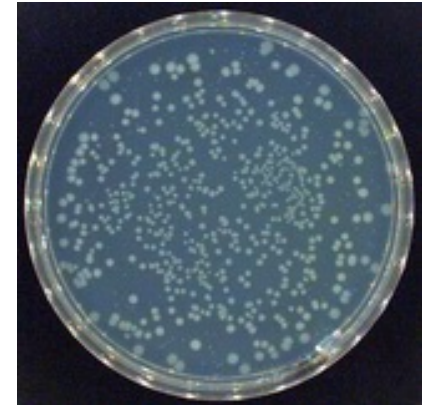
AMES
CHO/HGPRT
L5178Y/tk^{+/-} = MLA
.....

Abbérations Chromosomiques
Micronoyau
Test des Comètes
.....

Exemple : Le Test d'Ames

test de mutation génique sur cellule procaryote

Mutation reverse sur *Salmonella typhimurium* :
production d'histidine



Bactérie his **-** \longrightarrow his **+**
Agent génotoxique

Le plus ancien test de toxicologie génétique : 1970-3



Règlementairement :
Batterie de tests pour mesurer tous les dommages

Tests *in vitro* et *in vivo* : Tests rapides, sensibles, peu onéreux

Médicament
Batterie minimale de 3 (4) tests

*Test de mutation génique sur cellules procaryotes
= Test d' Ames

* Test de mutation génique et chromosomique sur cellules eucaryotes

*Test *in vivo* de mutations chromosomiques

Cas des IMPURETÉS GÉNOTOXIQUES (ICH M7)

Détermination de **limites acceptables** pour des impuretés génotoxiques (mécanismes sans seuil)

Calcul du risque :

Fonction de la durée :

exemple pour 1 impureté

| ≤ 1mois | 1-12 mois | 1 à 10 ans | > 10 ans |
|---------|-----------|------------|----------|
| 120 µg | 20 µg | 10 µg | 1.5 µg |

Taux peut être supérieur si : mécanisme avec seuil , exposition courte ; traitement qd pronostic vital en jeu ; durée de vie <5 ans

Principales études non cliniques en toxicologie

Etudes de Toxicologie générale

- toxicité par administration unique
- toxicité par administration réitérée

Etudes de Toxicologie spécifique

- Cancérogenèse
- Mutagenèse
- **Fonctions de reproduction**
- Tolérance locale

BUT :

Mev des effets toxiques sui se manifestent sur les fonctions de reproduction:



**état des gamètes
aptitude à l'accouplement
fécondation
nidation, implantation
embryogenèse
croissance in utero
parturition
lactation, sevrage
effets tardifs sur la progéniture**

**Nécessité absolue d'un haut niveau
de sécurité
pour une exposition *in utero***

Thalidomide, diéthylstilbestrol.....

PROTOCOLE

- Animal : **1 à 2 espèces**

rongeurs : rat : gestation = 21-22j , 14 A /portée

non rongeurs : lapin : gestation = 28-34j , 8 A /portée

- Dose (dose supérieure : **dose max tolérée**)

- Voie d' administration

- Fréquence

- Durée

- Observations

- Autopsie

- Résultats, statistiques



3 types d'étude

PROTOCOLE

- Animal : **1 à 2 espèces**

rongeurs : rat : gestation = 21-22j , 14 A /portée

non rongeurs : lapin : gestation = 28-34j , 8 A /portée

- Dose (dose supérieure : **dose max tolérée**)

- Voie d'administration

- Fréquence

- Durée

- Observations

- Autopsie

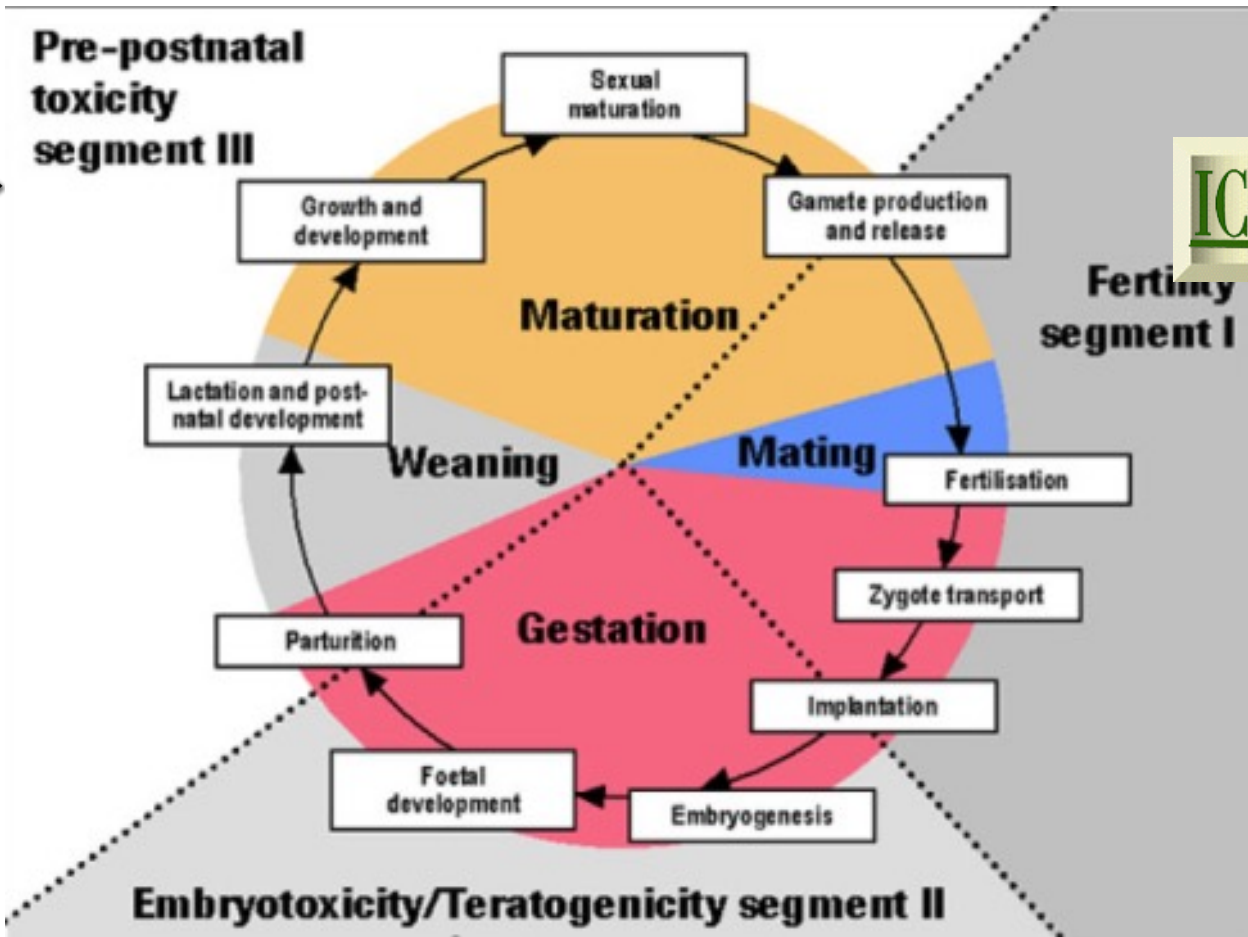
- Résultats, statistiques

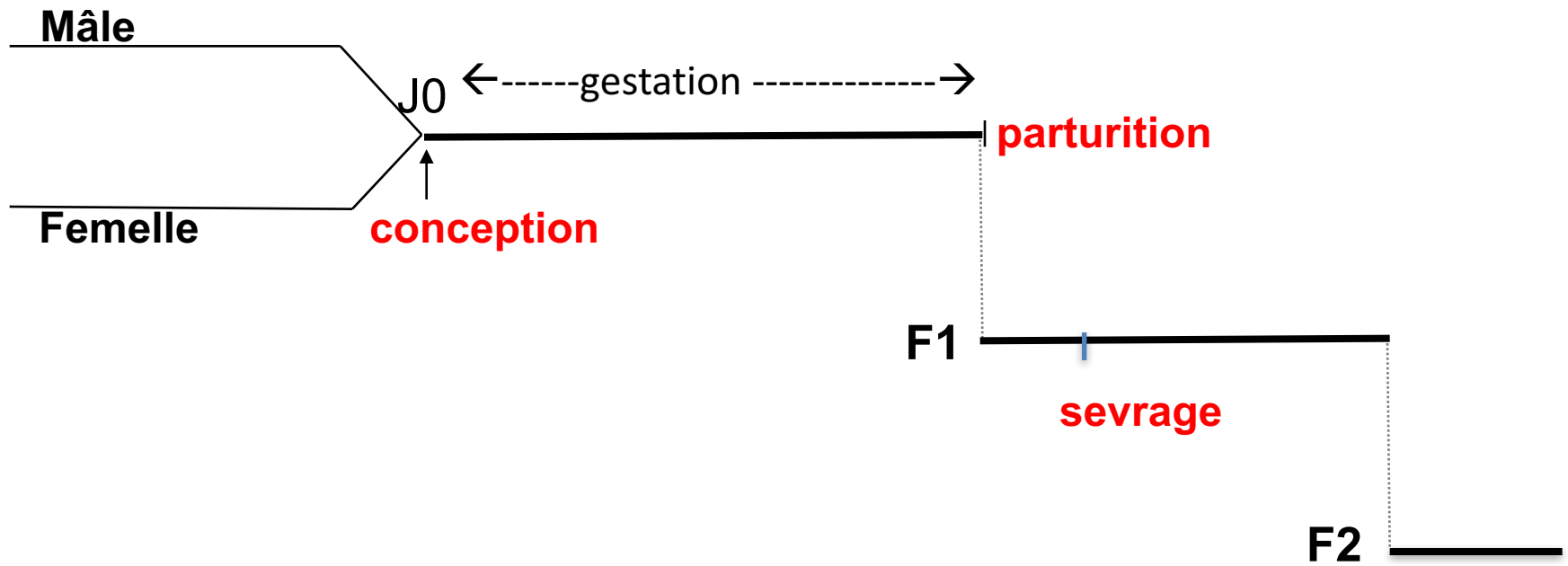
3 études => « segments »

Segment 1 = étude de fertilité et du développement embryonnaire précoce

Segment 2 = embryo- et fœtotoxicité = « évaluation du pouvoir tératogène »

Segment 3 = étude du développement péri- et postnatal



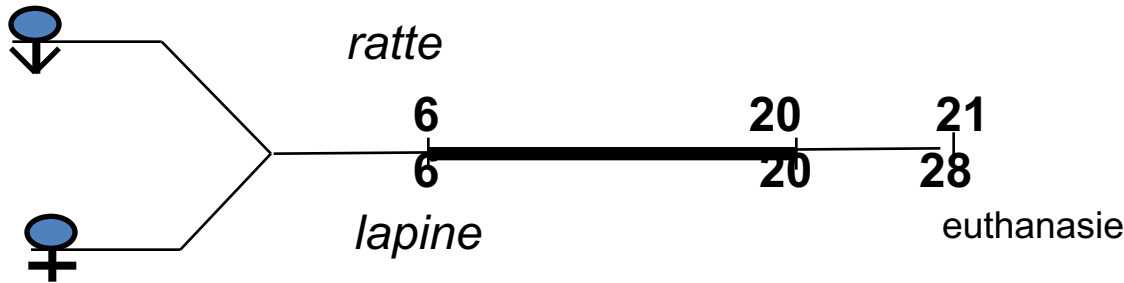


Exemple S2

développement embryofœtal : **embryo- et fœtotoxicité** **« évaluation du pouvoir tératogène »**

Min 2 espèces :

rongeur : rat (20/lot)
lapin albinos (18-20/lot)



900 foetus



Pendant l'étude : suivi des mères...
Fin : césarienne



nombre de foetus vivants, morts, poids, taille, sexe, aspect...

MALFORMATIONS

1/2 viscères & 1/2 squelette



Principales études non cliniques en toxicologie

Etudes de Toxicologie générale

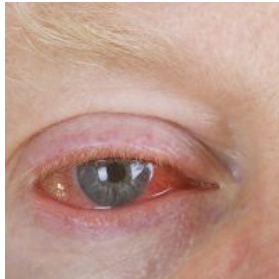
- toxicité par administration unique
- toxicité par administration réitérée

Etudes de Toxicologie spécifique

- Cancérogenèse
- Mutagenèse
- Fonctions de reproduction
- **Tolérance locale**

Voies d'entrée : œil, peau, muqueuses, tissus

- Irritation



- Nécrose



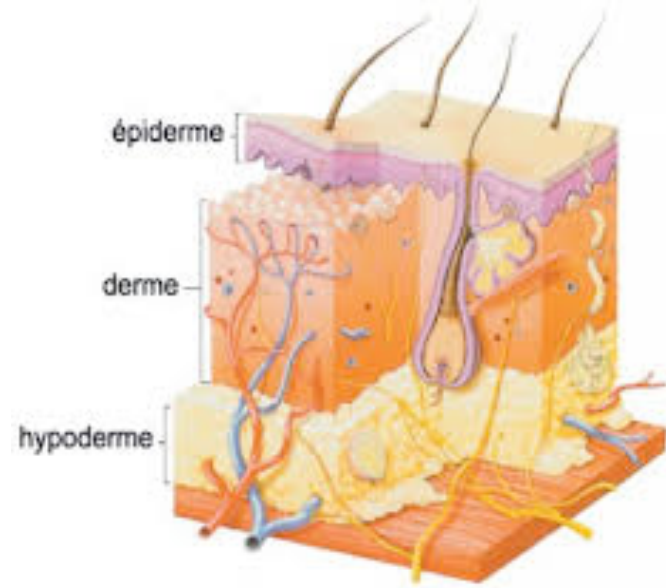
- Sensibilisation (peau, muq)



Pdt cosmétique

Exemple : **TOLERANCE CUTANEE**

Tests d'irritation/corrosion
Test de sensibilisation



Irritation cutanée = lésions cutanées **réversibles** (inflammation) consécutives à l'application d'un produit chimique testé durant une période de **quatre heures** au maximum
⇒ **érythème, œdème**

Corrosion cutanée = lésions cutanées **irréversibles**, et plus précisément **nécrose** visible à travers l'épiderme et jusque dans le derme, à la suite de l'application d'un produit chimique testé durant une période de **quatre heures** au maximum.
=> **ulcères, saignements**, croûtes saignantes et, au terme de la période de 14 jours, décoloration due au pâlissement de la peau, zones d'alopecie totale et escarres

Test d'irritation et corrosion aiguë cutanée

Test de Draize

OCDE 404 (1981 mises à jour 1992, 2002, 2015)

Avant

- 3 lapin albinos : région dorsale rasée
- produit : 0,5 ml ou 500 mg
- Contact 4 h sous compresse de protection

Règle des 3R

1^{er} A : essai 3 min

si rien essai 1h

si rien 4h

Confirmation sur 2 autres lapins

- Observations : 1h, 24, 48, 72h
Réversibilité 14j



EXEMPLE de MÉTHODES ALTERNATIVES VALIDÉES

modèle 3D

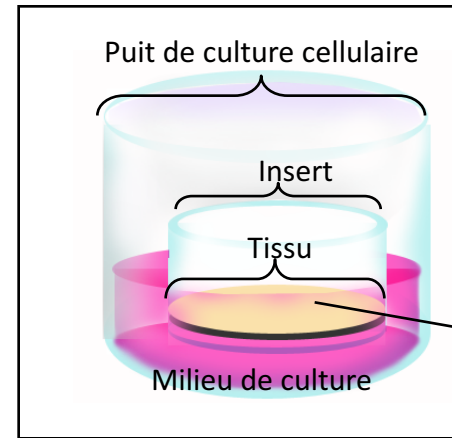
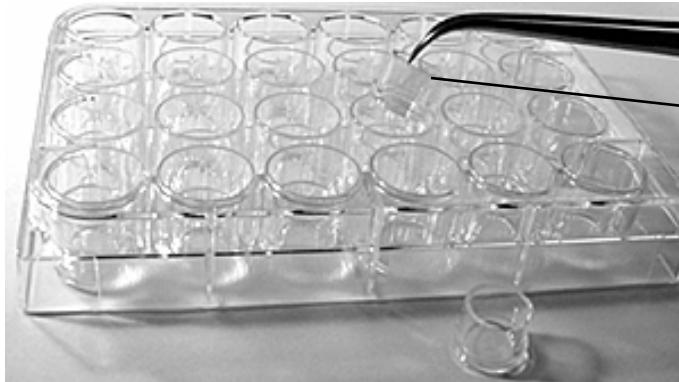
Épiderme humain reconstituée

=> corrosion *OCDE 431* (2015)

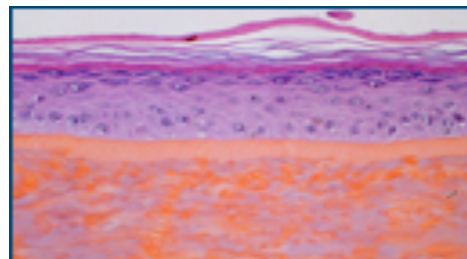
=> irritation *OCDE 439* (2015)

Épiderme humain reconstitué : test de corrosion

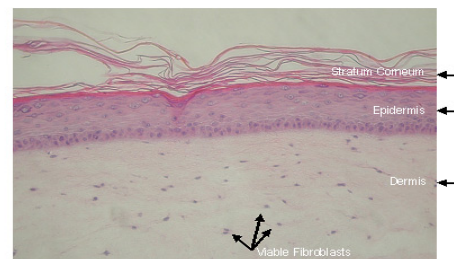
OCDE 431 2015



4 modèles validés : Episkin[®], Epiderm[®], SkinEthic[®], epiCS[®]



Episkin[®]
Support collagénique



Epiderm[®]
Support polycarbonate

Principales études non cliniques en toxicologie

Etudes de Toxicologie générale

- toxicité par administration unique
- toxicité par administration réitérée

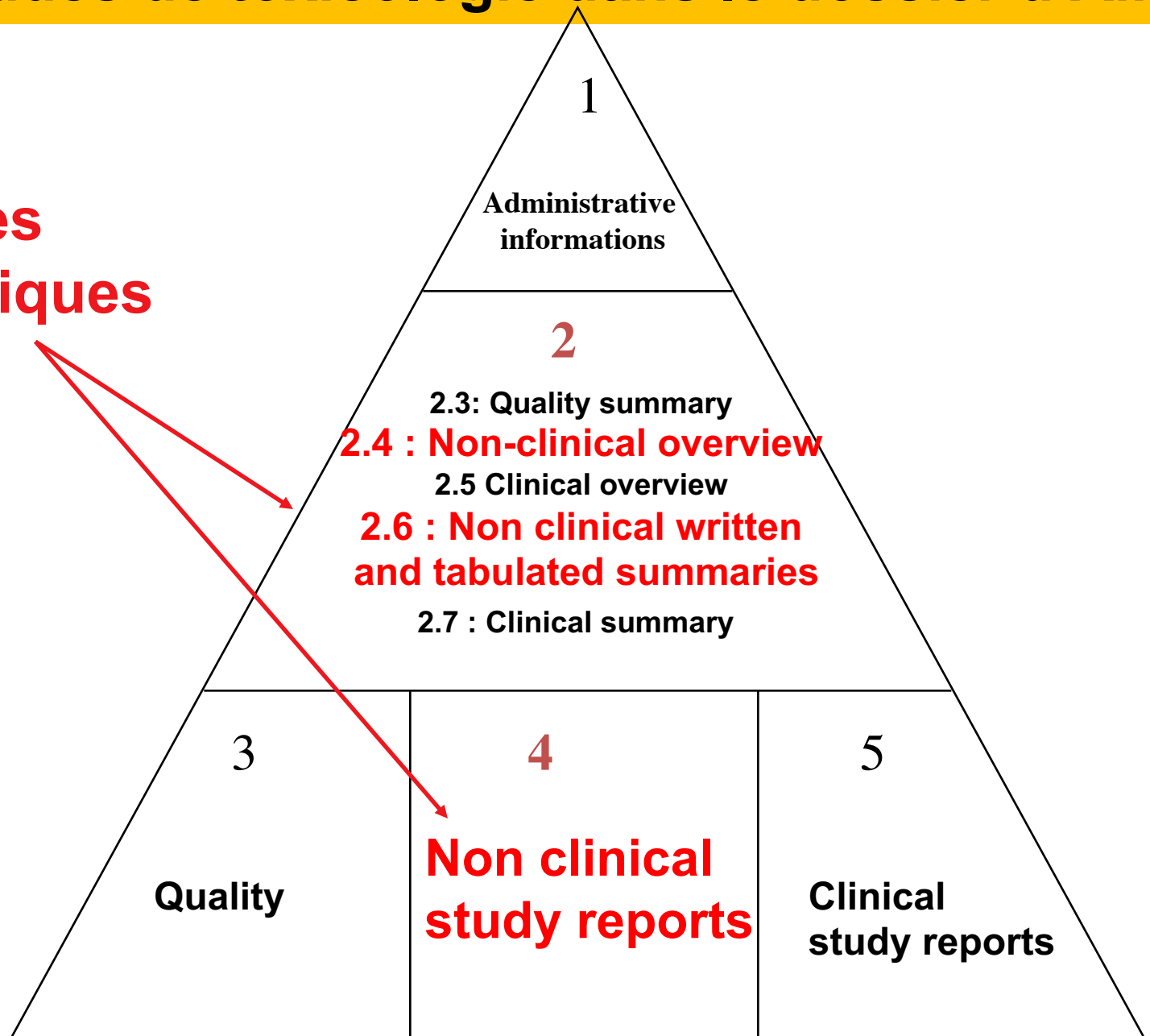
Etudes de Toxicologie spécifique

- Cancérogenèse
- Mutagenèse
- Fonctions de reproduction
- Tolérance locale

**Et : métabolites, impuretés, immunotoxicité, A
juvéniles, mécanistiques....**

Ttes les études de toxicologie dans le dossier d'AMM

Les études toxicologiques



Chronologie des études / essais cliniques

ÉTUDES NON CLINIQUES



ETUDES PRE-CLINIQUES

Les prérequis

Etudes de Toxicité aiguë
Etudes de Toxicité subaiguë
Etudes de Mutagenèse
Etudes de Tératogenèse
Etudes de Tolérance locale

ÉTUDES CLINIQUES

Phase 1

Volontaires
Tolérance(DMT), PK

Phase 2

Patients
Efficacité / posologie

Phase 3

Patients
Bénéfice/risque



Fin des études de Mutagenèse
Etudes de Toxicité chronique (min 3 mois)
Etudes de Tératogenèse (NB : si femme en phase 2)

Etude de Cancérogenèse si besoin
Etudes sur les Fonctions de reproduction
Fin des études de Toxicité chronique

Fin des études
Etudes mécanistiques si besoin

AMM

pharmacovigilance

IV
EVALUATION
DU RISQUE

Avec seuil



approche par 1 marge de sécurité : MOS

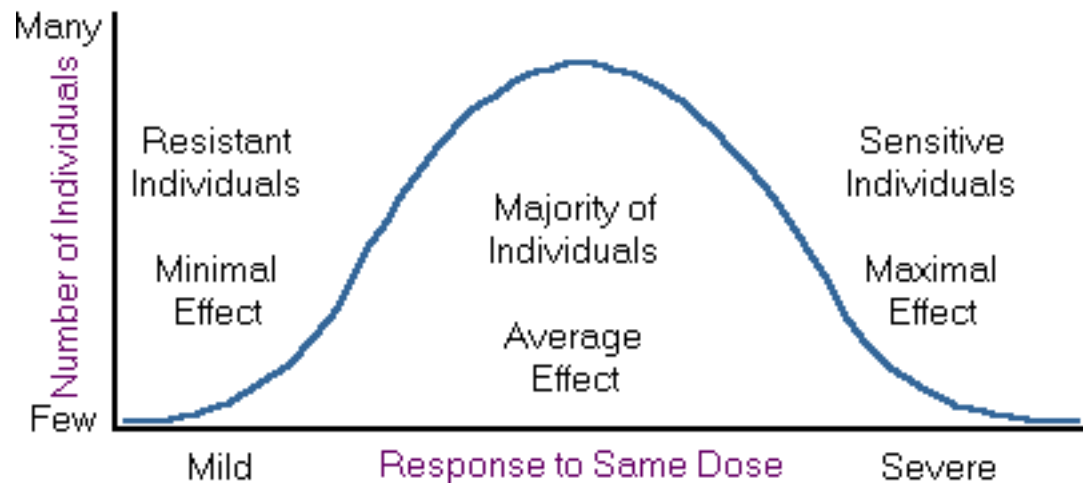
Un constat :

- **Variabilité inter-espèce**

Poids, Durée de vie, Anatomie, Physiologie, Pharmacocinétique, Métabolisme,

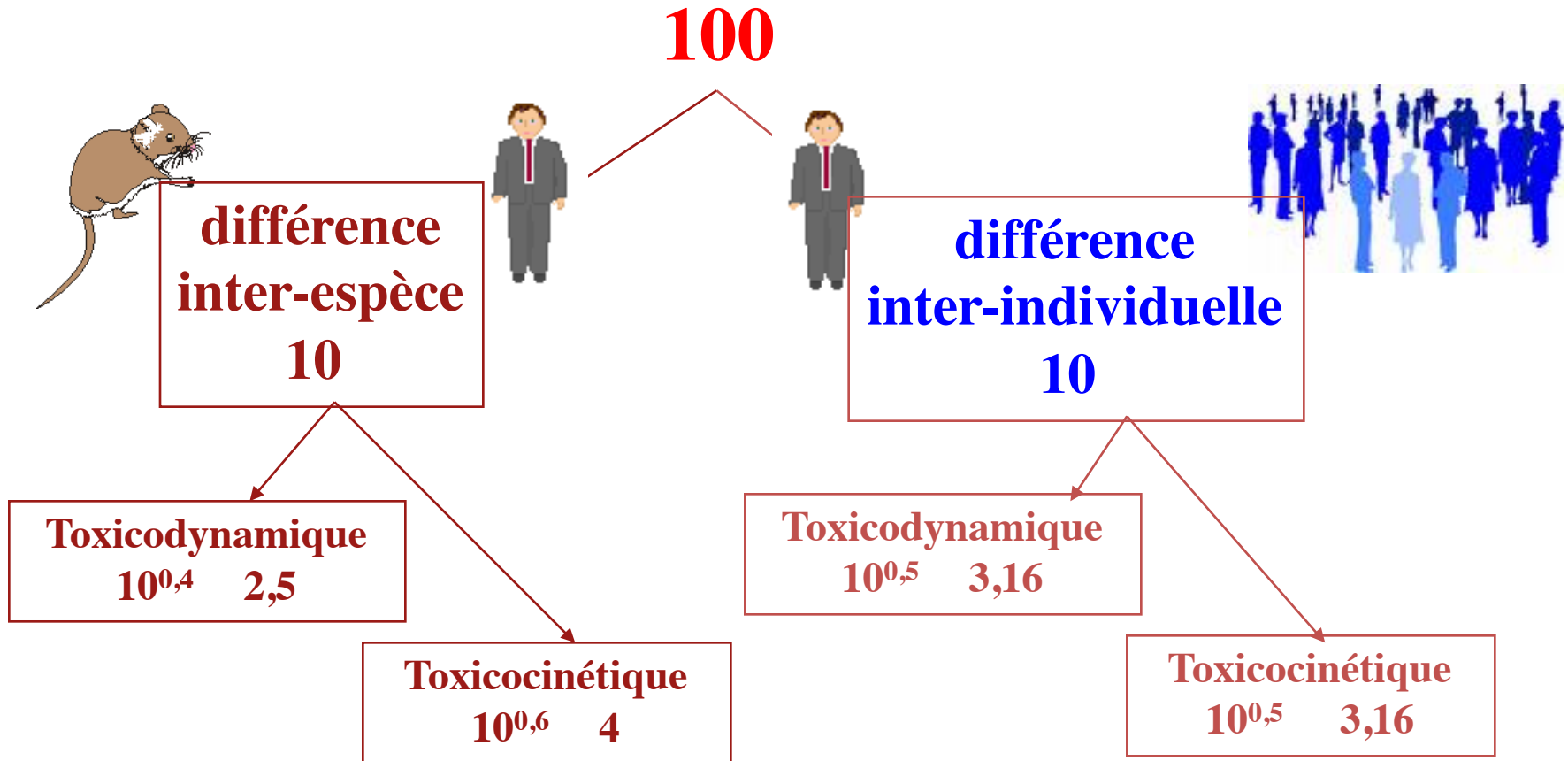
- **Variabilité intra-espèce**

Polymorphisme génétique, Pds, antécédents.....



Marge de sécurité

Facteurs de sécurité : min 2 fois 10



Facteurs supplémentaires : si LOAEL, étude court terme.....

Pour évaluer le risque :

calcul de la marge de sécurité =

AUC à la NOAEL (chez A)

AUC à la dose théra chez H pour l'utilisation envisagée