

Reprotoxicologie Réglementaire : REACH et ICH

Jeanne STADLER
Consultant Toxicologie - Tours



Pourquoi REACH?

- REACH = **R**egistration, **E**valuation, **A**uthorisation and Restriction of **C**hemicals
- REACH prévoit
 - une évaluation des produits chimiques en circulation
 - contraint les industriels à remplacer, si possible, les produits les plus dangereux par des produits de substitution.
- Evaluation
 - Fondée sur le réexamen préalable des dossiers existants
 - Compléter le dossier d'évaluation avec les études animales appropriées
 - Soumises à approbation (réduction du nombre d'animaux utilisés)



Pourquoi ICH?

- ICH = **I**nternational **C**onference on **H**armonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use
- Harmonisation
 - Europe, Japon et Etats-Unis
 - des pré-requis et des recommandations
 - demande d'AMM des médicaments
- Réduction
 - Nombre d'études animales et essais cliniques
 - Du temps nécessaire à la mise sur le marché



Liens entre REACH et ICH?

- Pour les médicaments devra-t-on réévaluer certaines substances entrant dans les processus de fabrication (solvants, conservateurs,...)?
 - Remplacement d'environ 1500 substances de ce type?
- *EFPIA: « il n'y a pas de risque qu'une firme doive arrêter la production d'un médicament pour se conformer à la réglementation »*
- Les autorités pourraient-elles demander le réexamen des médicaments pour lesquels le processus a été modifié en raison de l'application de la directive REACH?
 - Nécessité de refaire des études déjà effectuées conformément à l'ICH?

Le Figaro (Pierre Avril) 14/12/06 - Le Monde 14/12/06 & (Raphaële Rivaïs) 15/12/06



Que doit-on tester?

REACH

- Substances chimiques
 - Fabriquées
 - Importées
 - Utilisées
 - Mises sur le marché
- Très nombreuses exceptions

ICH

- Principes actifs
 - Combinaisons
 - Parfois des excipients



Exemptions de certaines dispositions de REACH

- Hors du champ d'application:
 - Substances radioactives
 - Substances soumises à contrôle douanier
 - Intermédiaires non isolés
 - Transport des substances par voie ferrée, routière, fluviale, maritime ou aérienne
 - Déchets
 - Pour cause d'intérêt de défense nationale
- Principales exemptions partielles
 - Médicaments à usage humain ou à usage vétérinaire
 - Denrées alimentaires ou aliments pour animaux
 - Produits cosmétiques
 - Dispositifs médicaux invasifs ou utilisés en contact physique direct avec le corps humain
 - Matériaux destinés à entrer en contact avec des denrées alimentaires
 - Produits phytopharmaceutiques et produits biocides
 - Recherche et développement scientifiques
 - Substances enregistrées, exportées et ré-importées dans la CEE
 - Substances déjà enregistrées et recyclées ou valorisées
 - Intermédiaires isolés restant sur le site et intermédiaires isolés transportés
 - Substances présentes dans des préparations à des concentrations inférieures à celles définies dans l'article 56(6) de REACH



Quand faire les études?

REACH

- Selon résultat analyse de l'existant et alertes
- Homme potentiellement exposé
- Nb d'études fonctions du tonnage annuel
- Annexes IX et X, études in-vivo sur propositions
- Etudes in-vitro acceptables
 - « screening » ou complémentaires

ICH

- Sauf rares exceptions, systematique
 - Avant soumission
 - Préalable à certains essais cliniques
- Evaluation complète du cycle de reproduction
 - 3 segments ou études combinées
- Etudes in-vivo
 - Etudes in-vitro de « screening » ou complémentaires



ICH: exigences en fonction du stade de développement

- Etude d'embryofoetotoxicité (Seg 2) pour inclusion de femmes en âge de procréer
 - Exceptions:
 - test de grossesse + contraception
 - USA: exigée pour Phase 3
- Etude de fertilité (Seg 1) avant début de la Phase 3
- Etude pré- et postnatale (Seg 3) pour la demande d'AMM
- Toutes les études de reprotoxicité exigées pour inclusion dans les essais cliniques de femmes enceintes ou de femmes dont le statut gestationnel est inconnu



REACH: évaluation des données existantes

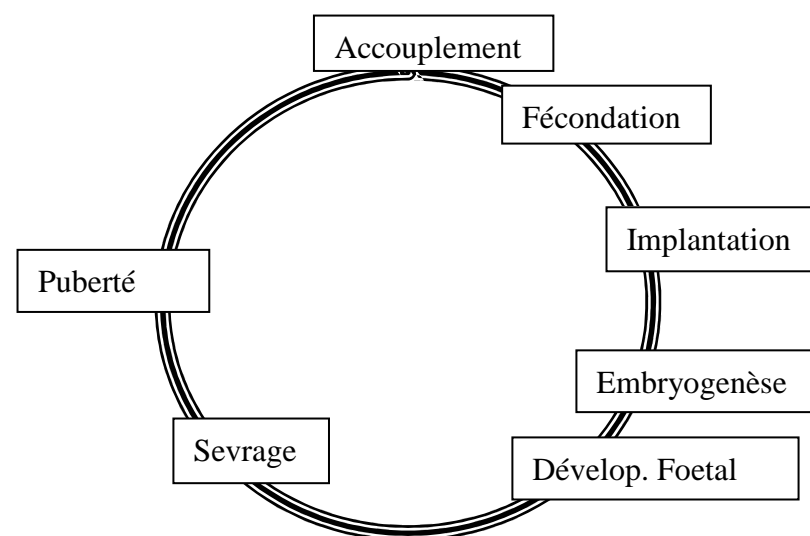
- Alertes structurales (QSAR)
- Mode d'action
- Perturbateur endocrinien
 - Test utéro-trophique (ER agoniste/antagoniste)
 - Test d'Herschberger (AR antagoniste)
- Alertes en provenance de données expérimentales:
 - DL50 < 50 mg/kg
 - Modifications du poids ou lésions des organes reproducteurs dans une étude (28 jours au moins)
 - Neurotoxicité chez l'animal adulte
 - Modifications endocrines (thyroïde ou sexuelles) dans une étude par administrations répétées
- Effets dans des études de toxicologie de la reproduction et du développement recevables mais ne suivant pas les lignes directrices OCDE

But des études de reproduction et du développement

Evaluer les effets potentiels d'une substance sur l'ensemble des étapes du cycle de reproduction

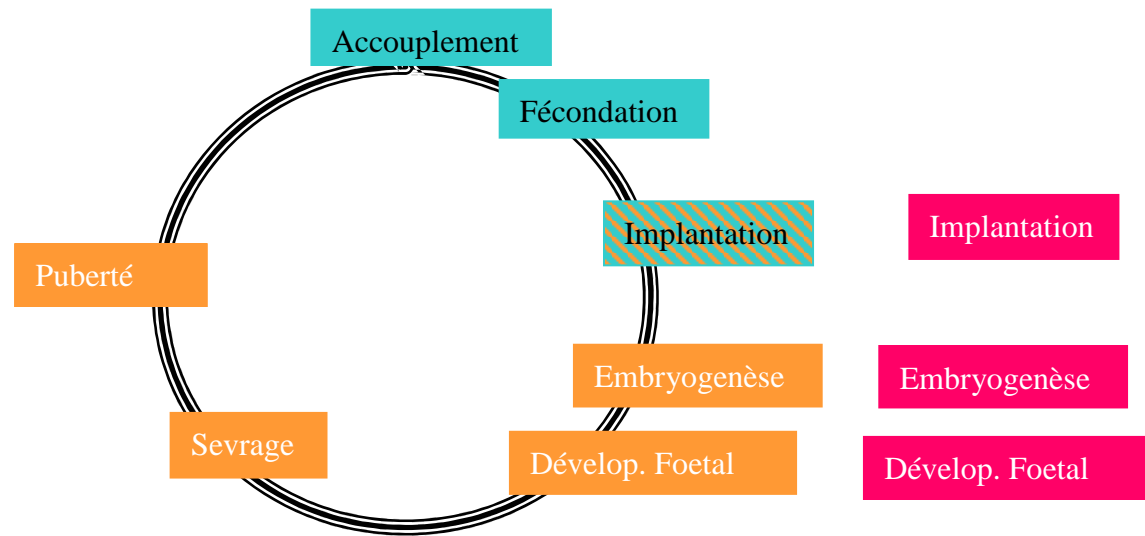
- A. Avant accouplement → Conception
- B. Conception → Implantation
- C. Implantation → Fermeture du palais dur (organogenèse)
- D. Fermeture du palais dur → fin de la gestation
- E. Naissance → Sevrage
- F. Sevrage → Maturité sexuelle

Classification ICH des étapes du cycle



Approche ICH: 3 études clés

Fertilité et développement embryonnaire précoce (Seg 1)



Développement pré- et postnatal (Seg 3)



Approche REACH: 1^{er} schéma

Tonnage annuel entre 10 et 100

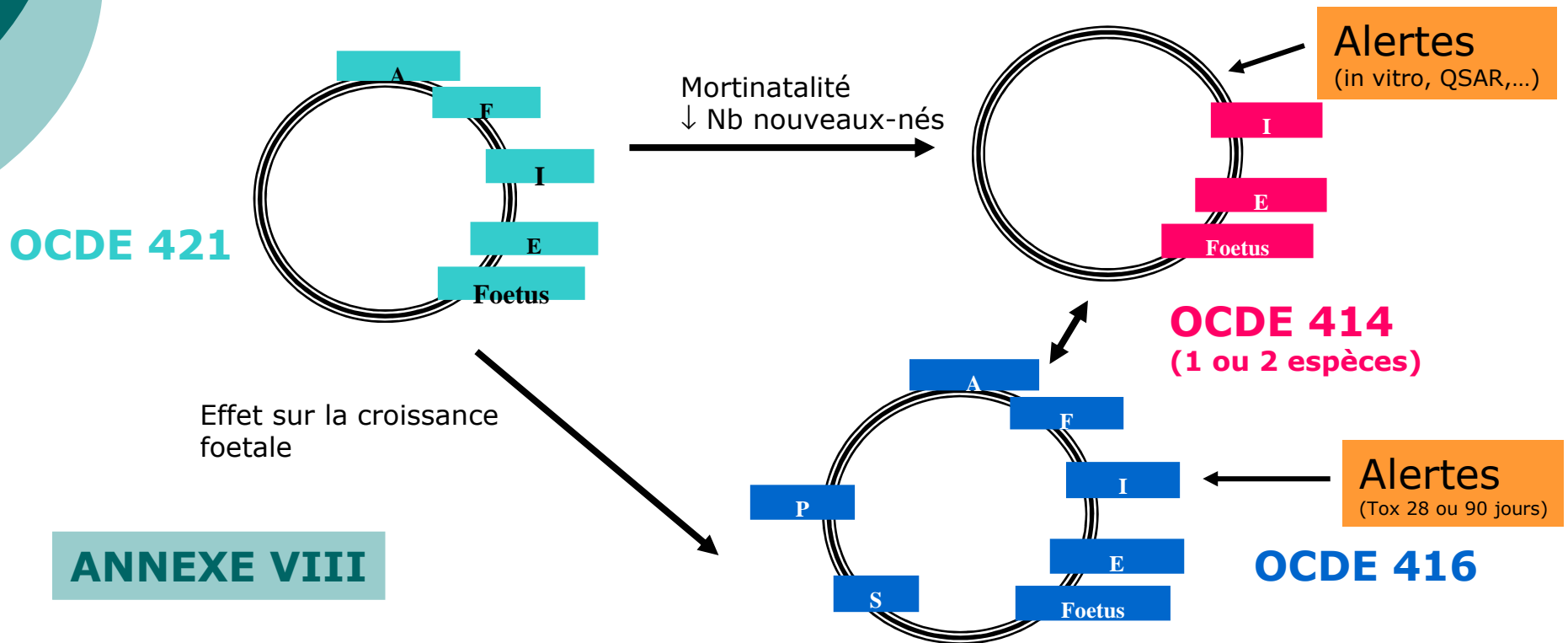
- Pas d'étude si:
 - la substance est un cancérogène génotoxique + gestion des risques
 - la substance est un mutagène sur cellules germinales + gestion des risques
 - si une exposition humaine peut être exclue
 - si une étude de toxicité est disponible au stade du développement prénatal ou pour la reproduction sur deux générations

- Substance classée ou relève du classement Cat 1 ou 2 R60 (effet sur la fertilité)
 - Envisager des essais portant sur la toxicité au stade du développement.

- Substance classée ou relève du classement Cat 1 ou 2 R61 (effet sur le développement)
 - Envisager des essais concernant les effets sur la fertilité.

Approche REACH: 1^{er} schéma (2)

Tonnage annuel entre 10 et 100





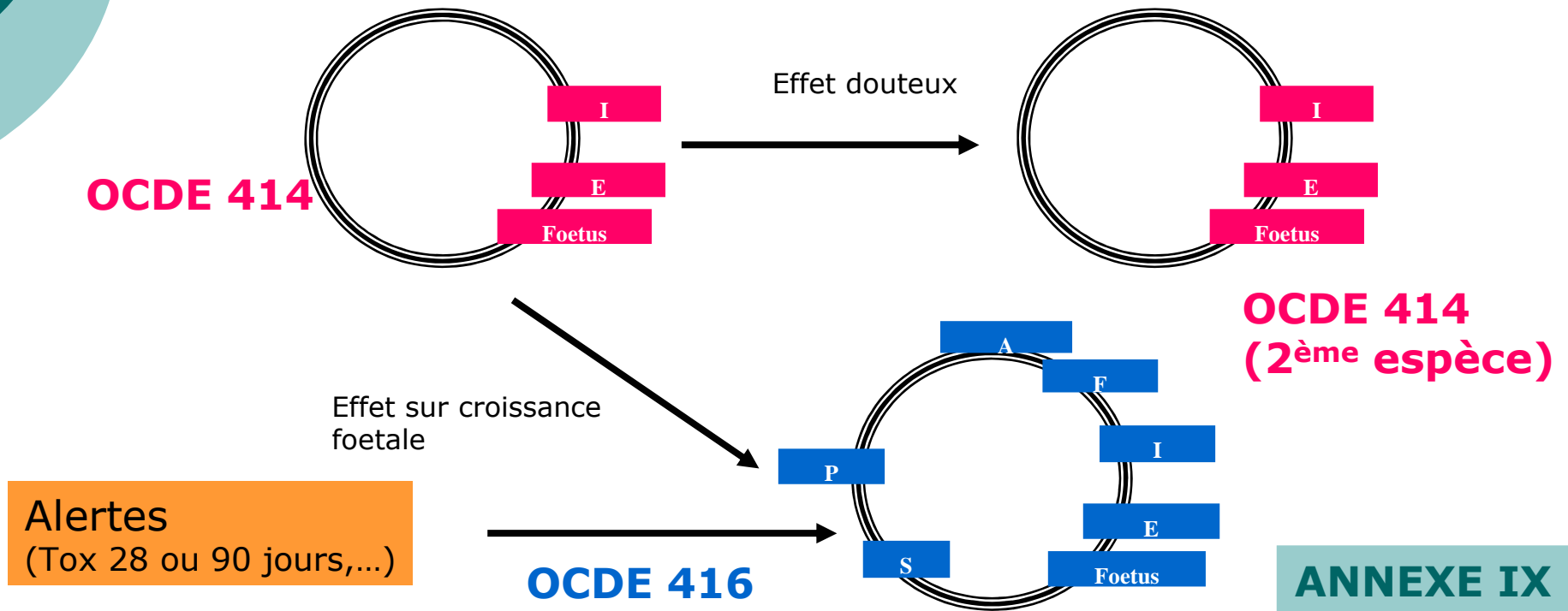
Approche REACH: 2^{ème} schéma

Tonnage annuel entre 100 et 1000

- Pas d'études si:
 - la substance est un cancérogène génotoxique + gestion des risques
 - la substance est un mutagène sur cellules germinales + gestion des risques
 - la substance a une faible activité toxicologique, si des données toxicocinétiques prouvent l'absence d'absorption systémique et s'il n'y a pas d'exposition humaine ou pas d'exposition humaine importante.
- Substance classée ou relève du classement Cat 1 ou 2 R60 (effet sur la fertilité)
 - Envisager des essais portant sur la toxicité au stade du développement.
- Substance classée ou relève du classement Cat 1 ou 2 R61 (effet sur le développement)
 - Envisager des essais concernant les effets sur la fertilité.

Approche REACH: 2^{ème} schéma

Tonnage annuel entre 100 et 1000





Approche REACH: 3^{ème} schéma

Tonnage annuel >1000

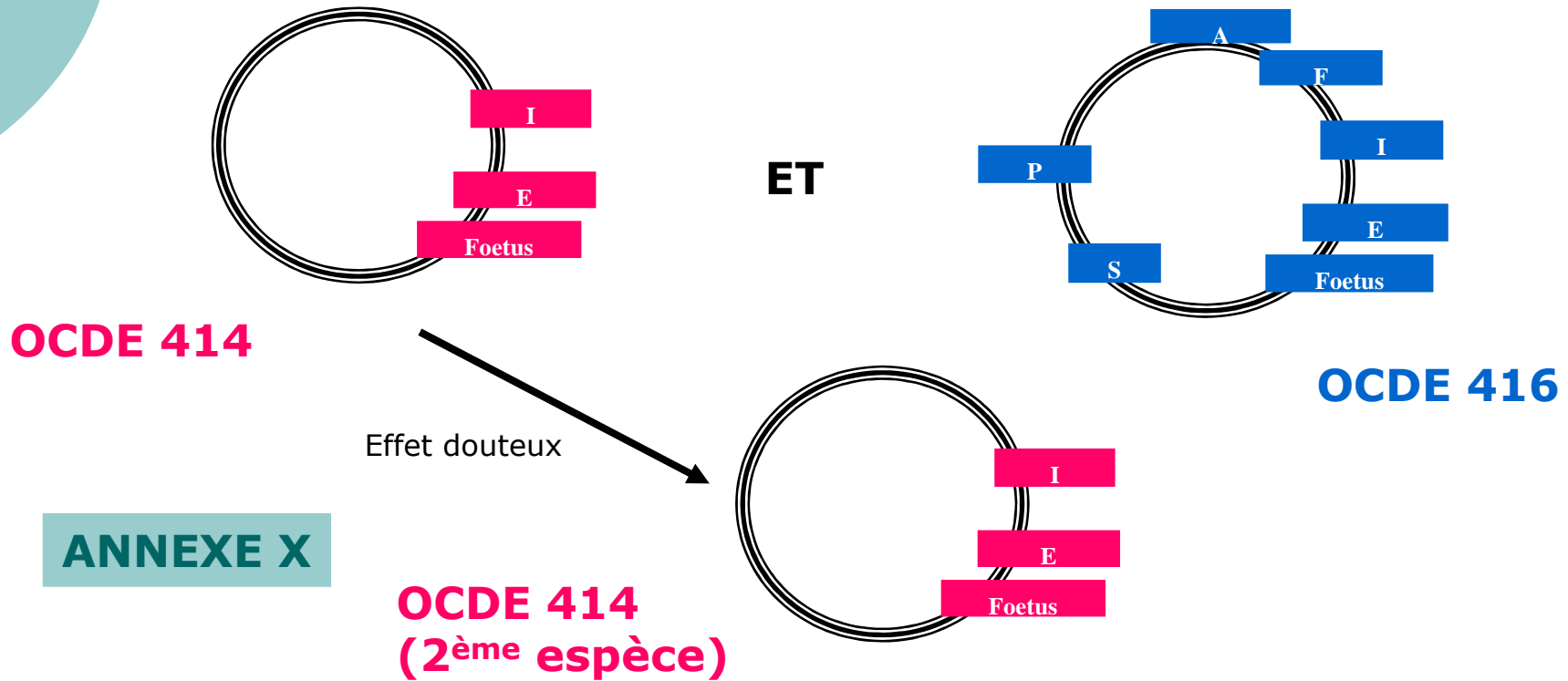
- Pas d'études si:
 - la substance est un cancérogène génotoxique + gestion des risques
 - la substance est un mutagène sur cellules germinales + gestion des risques
 - la substance a une faible activité toxicologique, si des données toxicocinétiques prouvent l'absence d'absorption systémique et s'il n'y a pas d'exposition humaine ou pas d'exposition humaine importante.

- Substance classée ou relève du classement Cat 1 ou 2 R60 (effet sur la fertilité)
 - Envisager des essais portant sur la toxicité au stade du développement.

- Substance classée ou relève du classement Cat 1 ou 2 R61 (effet sur le développement)
 - Envisager des essais concernant les effets sur la fertilité.

Approche REACH: 3^{ème} schéma

Tonnage annuel > 1000





Voies d'administration et d'exposition

REACH

- La voie d'exposition potentielle la plus appropriée
 - Orale
 - Pulmonaire
 - Transcutanée
 - Oculaire
- En pratique, celle qui engendrerait l'exposition la plus importante
 - OCDE: voie orale

ICH

- La voie choisie pour l'administration à l'Homme
 - Orale
 - Parentérales
 - Cutanée
 - Inhalation
- Voie permettant la plus grande exposition systémique



Gamme de doses

REACH

- En général 3 doses + un témoin véhicule ou blanc
- Choix des doses fonction des informations disponibles
- Dose forte donnant une certaine toxicité
- Dose intermédiaire légèrement toxique
- Dose faible présumée sans effet toxique
- Etablir une relation dose-effet
- Eventuellement une 4^{ème} dose

ICH

- En général 3 doses + un témoin
 - Cas du véhicule suspect
- Choix des doses fonction des informations disponibles
- Dose forte donnant un minimum de toxicité
- Dose faible présumée sans effet toxique
- Intérêt des études préliminaires
- Etablir une relation dose-effet
- Toxicocinétique souhaitable



Eudes préliminaires

REACH (OCDE 421 ou 422)

- 10 animaux par dose
- Début de traitement des deux sexes au moins 2 semaines avant accouplement
 - Sacrifice des femelles 4 jours après la mise bas
 - Dénombrement et examen des nouveaux-nés
- Paramètres classiques d'une étude de toxicologie
 - Histopathologie détaillée des organes de la reproduction
 - Batterie d'observation fonctionnelle optionnelle

ICH

- Pas de protocole défini
- Le plus souvent pour les études d'embryofœtotoxicité
 - 6 à 10 femelles/doses
 - Examen foœtaux réduits



Durée du traitement et nombre d'animaux- Fertilité

REACH (OCDE 416)

- 20 femelles gravidés/groupe
- Durée de traitement:
 - Génération P: de 5 et 9 semaines d'âge, pendant **au moins 10 semaines avant accouplement** et jusqu'au sevrage de F1 (femelles)
 - F1: du sevrage, **pendant au moins 10 semaines avant accouplement** et jusqu'au sevrage ou au sacrifice de F2

ICH

- 16 à 20 portées/groupe
- Durée de traitement:
 - Mâles: **Au moins 4 semaines avant accouplement**, toute la période d'accouplement et jusqu'au sacrifice des femelles
 - Femelles: **2 semaines avant accouplement**, toute la période d'accouplement, jusqu'au sacrifice (mi-gestation)



Durée du traitement et nombre d'animaux– Embryo- et foetotoxicité

REACH (OCDE 414)

- 20 femelles gravidés/groupe
- De la nidation à la veille de la mise bas

ICH

- 16 à 20 portées/groupe
- De l'implantation à la fermeture du palais dur (organogenèse)



Durée du traitement – Effets pré et postnatals

REACH (OCDE 416)

- 20 femelles gravidés/groupe
- Durée de traitement:
 - Génération P: de 5 et 9 semaines d'âge, pendant au moins 10 semaines avant accouplement et jusqu'au sevrage de F1 (femelles)
 - F1: du sevrage, pendant au moins 10 semaines avant accouplement et jusqu'au sevrage ou au sacrifice de F2

ICH

- 16 à 20 portées/groupe
- De l'implantation au sevrage des jeunes de la F1



Paramètres - Fertilité

REACH (OCDE 416)

- Observations cliniques quotidiennes
- Poids 1 fois/semaine + jours spécifiques
- Accouplements sur 2 semaines
 - Ré-accouplement possible
- Cycle œstral avant et pendant période d'accouplement
- Analyse de sperme
- Mise bas
- Survie et croissance des jeunes
- Critères de développement physique avant sevrage
- Ouverture vaginale et séparation balano-prépuçiale
 - Distance ano-génitale F2 si retard sur F1
- Test avant/après sevrage:
 - activité motrice
 - fonctions sensorielles
 - ontogenèse des réflexes
- Autopsie et examen histopathologique

ICH

- Observations cliniques quotidiennes
- Poids 2 fois/semaine
- Consommation alimentaire 1 fois/semaine
- Suivi du cycle oestral au moins pendant la période d'accouplement
- Accouplements sur 2 à 3 semaines
- Autopsie complète avec préservation des organes reproducteurs pour examen histopathologique éventuel
 - Préservation des lésions sur autres organes également
- Analyse de sperme
- Paramètres de reproduction



Paramètres – Embryo- et fœtotoxicité

REACH

- Observations cliniques quotidiennes
- Poids et consommation alimentaire tous les 3 jours
- Césarienne la veille de la mise bas
 - Pesée de l'utérus gravide
 - Paramètres de reproduction
- Examen externe, viscéral et squelettique des fœtus

ICH

- Observations cliniques quotidiennes
- Poids corporel au moins 2 fois/semaine
- Consommation alimentaire hebdomadaire
- Césarienne la veille de la mise bas
 - Observation des placentas
 - Conserver les organes lésés pour évaluation histologiques éventuelles
 - Paramètres de reproduction
- Examen externe, viscéral et squelettique des fœtus



Paramètres – Effets pré- et postnatals

REACH (OCDE 416)

- Observations cliniques quotidiennes
- Poids 1 fois/semaine + jours spécifiques
- Accouplements sur 2 semaines
 - Ré-accouplement possible
- Cycle œstral avant et pendant période d'accouplement
- Analyse de sperme
- Mise bas
- Survie et croissance des jeunes
- Critères de développement physique avant sevrage
- Ouverture vaginale et séparation balano-prépuçiale
 - Distance ano-génitale F2 si retard sur F1
- Test avant/après sevrage:
 - activité motrice
 - fonctions sensorielles
 - ontogenèse des réflexes
- Autopsie et examen histopathologique

ICH

- Observations cliniques quotidiennes
- Poids et consommation alimentaire 1 fois/semaine
- Durée de gestation
- Mise bas
- Survie et croissance des jeunes
- Critères de développement avant sevrage
- Ouverture vaginale et séparation balano-prépuçiale
- Tests avant et après sevrage
 - activité motrice
 - fonctions sensorielles
 - ontogenèse des réflexes
 - comportement
- Autopsie avec préservation des organes pour examen histologique possible

REACH – Effets pré- et postnatals

- Adjonction d'une évaluation de la neurotoxicité
 - Soit dans l'OCDE 416
 - Soit dans une étude séparée OCDE 426

- Proche de l'ICH pré- et postnatale

Tableau 1 : Calendrier d'évaluation des marqueurs physiques et développementaux, et des effets fonctionnels/comportementaux (a).

Effets \ Ages	Pré-sevrage (b)	Adolescence (b)	Jeunes adultes (b)
Marqueurs physiques et développementaux			
Poids corporel et observations cliniques	hebdomadaire (c)	au moins toutes les deux semaines	au moins toutes les deux semaines
Poids du cerveau	JAN 22 (j)		à la fin
Neuropathologie	JAN 22 (j)		à la fin
Matuité sexuelle	--	en temps opportun	--
Autres marqueurs du développement	s'il y a lieu	--	--
Effets fonctionnels / comportementaux			
Ontogénie comportementale	au moins deux mesures		
Activité motrice (y compris accoutumance)	1-3 fois (f)	--	une fois
Fonction motrice et sensorielle	--	une fois	une fois
Apprentissage et mémoire	--	une fois	une fois

+ évaluation neuropathologique de la descendance très approfondie



Et les études de toxicité juvéniles?

REACH

- Evaluation dans les études 2 générations (OCDE 416)
- Analogies avec l'OCDE 426

ICH

- Etudes de toxicité sur animaux immatures
- Recherche d'effets spécifiques:
 - Squelette
 - SNC
 - Système reproducteur
 - Fonction pulmonaire
 - Système immunitaire
 - Fonction rénale



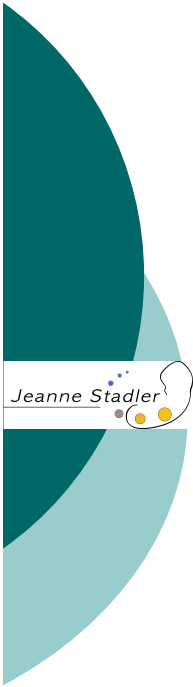
En résumé

REACH = démarche par étapes **Fonction du tonnage**

- Recueil et analyse de l'ensemble des données disponibles sur les substances chimiques
 - Expertise solide pour les études non BPL et/ou ne suivant pas les lignes directrices
- Pas de test sur vertébrés avant d'avoir vérifié chaque étape (annexes IX et X)
- Essais *in vitro*
- Démarche **au cas par cas**, suivant le tonnage, les informations disponibles, les besoins en informations supplémentaires...

ICH = évaluation systématique **Fonction de la population traitée et des étapes de développement**

- Applicable aux médicaments pour toute demande d'AMM
- Trois études *in-vivo* couvrant l'ensemble du cycle de reproduction
- Au cas par cas, études de toxicité juvénile



Merci de votre attention





Classification des substances chimiques

- **Catégorie 1** : les substances que l'on sait être CMR pour l'homme (relation de cause à effet certaine).
- **Catégorie 2** : les substances devant être assimilées à des substances CMR pour l'homme (forte présomption).
- **Catégorie 3** : les substances préoccupantes pour l'homme en raison des effets CMR possibles.



Classification des substances chimiques

- **Agents cancérogènes 1^{ère} et 2^{ème} catégories**
 - **R 45** : peut causer le cancer
 - **R 49** : peut causer le cancer par inhalation
- **Agents cancérogènes 3^{ème} catégorie**
 - **R 40** : effet cancérogène suspecté, preuves insuffisantes
- **Agents Mutagènes :**
 - **R 46** : peut causer des altérations génétiques héréditaires (cat. 1 et 2)
 - **R 68** : possibilité d 'effets irréversibles (cat. 3)
- **Toxiques pour la reproduction :**
 - **R 60** : peut altérer la fertilité (cat. 1 et 2)
 - **R 61** : risque pendant la grossesse d 'effets néfastes pour l 'enfant (cat.1 et 2)
 - **R 62** : risque possible d 'altération de la fertilité (cat. 3)
 - **R 63** : risque possible pendant la grossesse d 'effets néfastes pour l 'enfant (cat. 3)
 - **R 64** : risque possible pour les bébés nourris au lait maternel (cat.3)



Contenu du dossier d'enregistrement REACH

- identité du ou des fabricants ou importateurs
- identité de la substance
- des informations sur la fabrication et la/les utilisations des substances
- la classification et l'étiquetage de la substance
- des conseils d'utilisation
- des résumés d'étude relatifs aux informations découlant de l'application des annexes VII à XI
- une demande indiquant quelles informations, parmi celles visées à l'article 119.2, le fabricant ou l'importateur estime ne pas devoir être publiées sur Internet, en particulier les raisons commerciales.

D'après Cahier de notes documentaires INRS 3ème trimestre 2006

Contenu du dossier REACH (2)

Catégorie	Exigence d'information standard	Délais d'enregistrement
> 1000 tonnes/an	Annexes VII, VIII, IX et X	Novembre 2010
CMR 1 et 2 > 1 tonne/an	En fonction des tonnages	Novembre 2010
R50/53 > 100 tonnes/an	En fonction des tonnages	Novembre 2010
> 100 tonnes/an	Annexes VII, VIII et IX	Mai 2013
> 10 tonnes/an	Annexes VII et VIII	Mai 2013
> 1 tonne/an	Annexe VII	Mai 2013



Annexe VII

- Toxicité aiguë (voie orale)
- Irritation (ou corrosion) cutanée et oculaire (in vitro)
- Sensibilisation cutanée (de préférence essai de stimulation locale des ganglions lymphatiques de murins)
- Essai de mutation génétique sur bactéries (plus études supplémentaires en cas de résultats positifs)

D'après Cahier de notes documentaires INRS 3ème trimestre 2006



Annexe VIII

- Toxicité aiguë (voie cutanée ou inhalation)
- Irritation cutanée et oculaire (in vivo)
- Essais de mutagénicité in vitro sur cellules de mammifères (cytogénicité et en cas de résultat négatif, mutation génétique), plus études in vivo en cas de résultats positifs dans l'un des essais
- Toxicité par administration répétée, sauf, si une exposition humaine peut être exclue (annexe XI) : normalement étude sur 28 jours, à moins qu'une étude sur 90 jours soit plus approprié
- Un test de toxicité sur la reproduction, sauf si une exposition humaine peut être exclue (annexe XI) : étude de dépistage (OCDE 421 ou 422) s'il n'existe aucun indice de toxicité pour la reproduction sur la base de la structure ou d'études in vitro.
Cet essai peut être remplacé par une étude de toxicité sur le développement prénatal ou une étude de toxicité pour la reproduction sur deux générations si la substance suscite de sérieuses préoccupations.
- Evaluation du comportement toxico cinétique à partir des informations disponibles.



Annexe IX

- Essais de mutagénicité complémentaires un vivo si nécessaire
- Essai de toxicité subchronique (90 jours) sauf dans certaines conditions, notamment si effets toxiques graves dans l'essai 28 jours (classification R48) et possibilité d'extrapolation de la NOAEL/28 jours à une NOAEL/90 jours
- Toxicité pour la reproduction
 - étude de toxicité au stade de développement prénatal sur une espèce (2ème espèce au cas par cas),
 - étude de toxicité pour la reproduction sur deux générations sur une espèce (2ème espèce au cas par cas), seulement si inquiétudes sérieuses
- Ces études peuvent être évitées si le déclarant peut justifier d'une exposition humaine suffisamment limitée (annexe XI). Toutefois un essai de toxicité sur 28 jours sera quand même exigé si une dérogation est obtenue pour la toxicité subchronique sur la base des scénarios d'exposition.

D'après Cahier de notes documentaires INRS 3ème trimestre 2006



Annexe X

- Etude de génotoxicité complémentaires si nécessaires
- Etude de toxicité à long terme (> 12 mois) si appropriée
- Etude de toxicité pour la reproduction sur deux générations sur une espèce (2ème espèce au cas par cas)
- Etude de carcinogénicité si l'exposition et les données disponibles en font apparaître la nécessité
- Ces études peuvent être évitées si le déclarant peut justifier d'une exposition humaine suffisamment limitée (annexe XI)

D'après Cahier de notes documentaires INRS 3ème trimestre 2006

Schémas OCDE 421 et 422

