



# ACTUALITES EN TOXICOCINETIQUE

## SFT/GMP

Mercredi 28 Septembre 2005



**Et c'est totalement  
contaminé par des  
produits interdits par  
l'EMA**

## Bonnes Pratiques pour éviter la contamination des témoins

« Retour d'expérience »

Stéphane de Jouffrey

☞ Contexte (1999 – 2005)

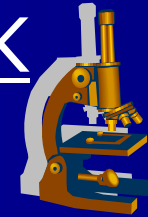
☞ Ligne directrice CPMP

☞ Workshop EFPIA et mesures prises  
au CIT



# Contexte

- 1999 : analyse de 67 études avec TK
  - 5 cas de contamination d'échantillons témoins (7,5%)
  - 2 études par gavage, 2 par mélange alimentaire, 1 par perfusion
  - 100% dosages dans d'autres laboratoires
  - 0% d'élucidation de la cause
  - Pour un produit, contamination également dans un autre CRO (inspection AFSSAPS)
- Enquête de l'EFPIA (2001)
- Ligne Directrice CPMP (draft)
- Workshop EFPIA (2003)



# Ligne directrice CPMP/SWP/1094/04

« Guideline for the evaluation of control samples in nonclinical safety studies: checking for contamination with the test substance »

☞ Date d'application : Septembre 2005

☞ Définit :

- Les types d'études concernées :
  - ◆ Toutes les études pivots
- Les prélèvements et analyses :
  - ◆ Non-rongeurs : idem traités
  - ◆ Rongeurs : au moins près du Tmax
- Les conséquences et les actions
  - Traces ou <LOQ : RAS
  - Contamination significative : recherche de la cause
    - Contamination in-vivo : évaluer impact sur la validité de l'étude
    - Contamination ex-vivo : évaluer impact sur la validité de la TK



# Ligne directrice CPMP/SWP/1094/04

## ☞ Pour la recherche de la cause :

- Dosage dans les tissus
- Dosage de métabolites,
- Détection d'anti-corps...

## ☞ L'évaluation de l'impact doit être fait en fonction de :

- L'importance de la contamination
- L'influence sur les analyses statistiques
- La marge de sécurité
- L'effet sur la fiabilité de la détermination de l'exposition des animaux traités.



# Ligne directrice CPMP/SWP/1094/04

- ☞ Des mesures correctives doivent être prises
- ☞ Conséquences pour le rapport :
  - Résultats des analyses témoins toujours présentés (même si aucune contamination)
  - Fréquence, type et importance de la contamination, présentés et analysés
  - L'impact d'une contamination sur la validité de l'étude doit être discuté
- ☞ Conséquences pour le rapport d'expert, évaluation de l'impact sur :
  - L'étude,
  - L'interprétation des résultats
  - L'évaluation du risque pour l'homme.





# WORKSHOP EPFIA

EPFIA SAFETY AHG WORKSHOP ON "DRUG IN CONTROLS" 13 OCTOBRE 2003, MONT ST. GUIBERT, BELGIQUE (LILLY)

- ➔ Objectif : Définir les "Bonnes Pratiques" pour minimiser la contamination des échantillons biologiques témoins par l'item d'essai
  - 2 groupes de travail :
    - ◆ Toxicologistes
    - ◆ Analystes
  - Participants : 12 firmes pharmaceutiques, 6 CRO
  - Définir des recommandations (présentation au SWP et publication)





# WORKSHOP EPFIA

## ☞ Questions concernant le laboratoire de Toxicologie

### – Pharmacie

- ◆ Item d'essai : reception, identification et stockage
- ◆ Formulation : procédures, identification, transport dans l'animalerie, vérification des quantités administrée

### – Procédures générales

- ◆ Matériels, salles d'étude, environnement
- ◆ Equipements de protection, mesures d'hygiène pour le personnel
- ◆ Nettoyage du matériel et de la salle d'étude, contrôles
- ◆ Ordre de traitement

### – Salle d'étude

- ◆ Hébergement des animaux (ordre, localisation des témoins...)
- ◆ Identification des formulations, vérification des quantités administrées handling and Dosing
- ◆ Prélèvement des liquides biologiques : matériel, gants, station de travail, stockage des échantillons...





# WORKSHOP EPFIA

☞ (suite)

## – Autopsie

- ◆ Prélèvements des liquides biologiques/tissus : matériel, gants, station de travail, stockage des échantillons...

## – Toxicocinétique

- ◆ Quelles études
- ◆ Quels temps de prélèvements
- ◆ Quelle fréquence de prélèvement des témoins
- ◆ Prélèvements
  - Procédures
  - Matériels, gants, station de travail...



# WORKSHOP EPFIA

## Questions concernant le laboratoire d'analyse

### – **Analyses des formulations**

- ◆ Prélèvements : procédures, matériel, gants...
- ◆ Prélèvements : étiquetage et transport
- ◆ Analyse : méthode/matériel et séquence

### – **Analyses des prélèvements biologiques**

- ◆ Etiquetage et transport
- ◆ Analyse : méthode/matériel et séquence
- ◆ Critères de validation, LOQ



# WORKSHOP EPFIA

## Questions générales pour les 2 groupes

### – Rapport

- ◆ Communication des résultats
- ◆ Discussion des résultats
- ◆ Evaluation de l'impact sur la validité de l'étude

### – Conformité aux BPL

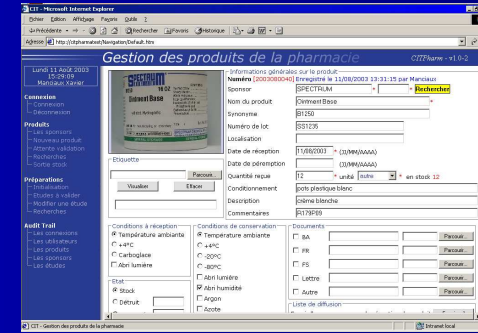
- ◆ Rôles des différents acteurs: DE, AQ, Analyste

### – Suivi/Mesures correctives



# EFPIA/CIT Pharmacie

## Item d'essai et véhicules



### ☞ Réception/identification/stockage

- Double emballage + Container rigide
- Etiquetage non équivoque sur tous les emballages (code barre)
- Vérification du BA
- Pesée à réception
- Stockage conforme aux données de stabilité
- Séparation des véhicules (au moins placards séparés)

### ☞ Formulation/identification/transport

- Formulation des témoins
  - ◆ A part (procédures de nettoyage OK)
  - ◆ A un autre moment de la journée, témoins avant traités, doses croissantes
  - ◆ Container séparés : dilution et traitement
- Etiquetage non équivoque
- Container dédiés et scellés
- Barreau magnétique dédié
- Prélèvement les jours de TK

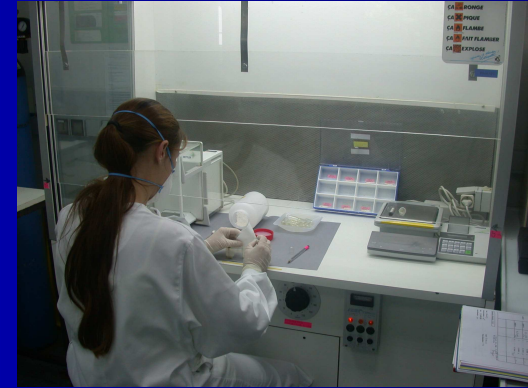
### ➤ Vérifications de tous ces points (procédures)

- ✓ Formulaire
- ✓ Code barres
- ✓ Formulaire + action DE + action AQ
- ✓ Non (sécurité et pertes), indication demandée
- ✓ Formulaire
- ✓ Pièce séparée, dédiée
- ✓ Pièce séparée dédiée
- ✓ Matériel dédié/groupe, usage unique pour l'étude
- ✓ Code barres
- ✓ Flacons en verre bruns à vis
- ✓ Couleur spécifique pour les témoins
- ✓ Standard dans plan d'étude



# EFPIA/CIT Pharmacie

## Item d'essai et véhicules



### ☞ Procédures de vérification

- Pesée avant et après tout prélèvements (item d'essai ou témoin)
- Vérification pesée réelle et théorique
- Registre des pesées conservés avec registres d'étude

- ✓ Procédure OK (logiciel pour le stockage et la formulation)
- ✓ OK
- ✓ Tickets de pesée

### **NB : Informations utiles**

- Expérience passée
- Propriétés physico-chimiques

- ✓ Formulaire a compléter par le Sponsor



# EFPIA/CIT Toxicologie

## Principes Généraux



### ☞ Matériel

- Containers/Béchers dédiés par groupe et par étude (détruits ensuite)
- Dès que possible matériel/équipement dédié témoins/traités

### ☞ Équipement de protection

- Traitement des témoins en premier puis traités en ordre croissant des doses.
- Changement de gants et tablier entre les groupes
- Changement de gants quand contamination

### ☞ Procédures de nettoyage

- Doivent tenir compte des propriétés physico-chimiques/autres du produit
- En cas de doute (expérience passée, propriétés, contamination...), efficacité à vérifier

- ✓ OK
- ✓ Impératif pour tout matériel/équipement pour la TK. Si possible pour tout matériel
- ✓ Si non (avec justification) procédure très stricte de nettoyage et de change des équipements de protection entre les animaux/groupes
- ✓ Faire attention au téléphone (enlever les gants), affiche sur le téléphone
- ✓ Formulaire à compléter par le Sponsor
- ✓ Procédure de nettoyage des mélangeurs systématiquement vérifiée



# EFPIA/CIT Toxicologie

## Salles d'Etudes



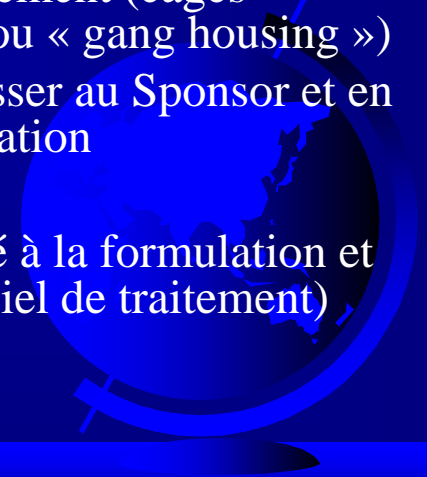
### Hébergement des animaux

- Portoirs séparés témoins/traités si non un espace entre les groupes (rongeurs)
- Pour certaines voies (inhalation), groupe témoin dans une salle à part
- Matériel d'enrichissement : dédié par groupe et par étude, lavage et stockage témoins à part
- Non-rongeurs : exercice/regroupement des animaux témoins séparément des traités
- Anticiper les possibles contamination par urines et fèces

### Identification des formulations

- Formulation facilement identifiable
- Pesée de béccher avant et après utilisation :expliquer/statuer si différence > 10%

- ✓ Portoirs séparés
- ✓ Au cas par cas selon les difficultés rencontrées
- ✓ OK
- ✓ Chaque groupe séparé et dans leur propre environnement (cages communiquent ou « gang housing »)
- ✓ Question à adresser au Sponsor et en cas de contamination
- ✓ Code barre, relié à la formulation et au groupe (logiciel de traitement)
- ✓ OK



# EFPIA/CIT Toxicologie

## Salles d'Etudes



### Prélèvements de liquides biologiques

- Préparation des tubes et des registres dans une salle séparée, propre ✓ OK
- Tubes placés dans un sac scellé, par groupe. Sac et tubes pas ouverts à l'avance. ✓ OK
- Attention à la voie d'administration/site de prélèvement. Nettoyer le site (queue) ✓ OK
- Si possible, prélever dans un pièce à part, qui ne sert pas à héberger les animaux ✓ Fait pour les primates
- Si possible prélèvement des témoins dans une zone séparée des traités. Si non témoins en premier, puis doses croissantes pour les traités. Si non procédure très stricte de nettoyage et de change des équipements de protection entre les animaux/groupes ✓ Prélèvement des témoins un autre jour. Si non OK
- Préleveurs dédiés ✓ OK
- Matériels (anesthésie, prélèvement, centrifugeuses...) dédiés pour les témoins ✓ OK





# EFPIA/CIT

## Autopsie



### ☞ Prélèvements de liquides biologiques/tissus

– En cas de prélèvements de TK à l'autopsie :

- ◆ Préleveur dédié
- ◆ Matériel dédié (penser homogénéisation; congélation...)
- ◆ Témoins en premier

- ✓ OK
- ✓ Procédure spécifique
- ✓ Ou un autre jour



# EFPIA/CIT

## Toxicocinétique

### ☞ Types d'études

- Toutes les études pivots
- A considérer dans les études préliminaires
- Etude de repro (rat), possible d'extrapoler à partir des données existante si :
  - ◆ Mêmes procédures
  - ◆ Pas de contamination

### ☞ Temps de prélèvements

- Idem traités
- Pas nécessaire le même jour
- Si négatif dans premières études, considérer moins de temps/d'animaux

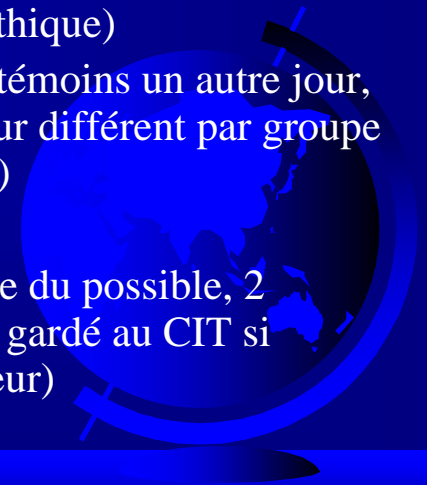
### ☞ Volume de prélèvement

- Essayer d'avoir toujours suffisamment de volume pour faire 2 analyses

- ✓ Etudes préliminaires afin de détecter rapidement un éventuel problème et prendre des mesures adaptées pour les études pivots. Toutes les études pivots

- ✓ OK, mais pour rongeurs, selon études, peut être moins (éthique)
- ✓ Prélèvements des témoins un autre jour, éventuellement jour différent par groupe (pour autre que J1)

- ✓ Fait dans la mesure du possible, 2 aliquotes (dont un gardé au CIT si dosages à l'extérieur)



# EFPIA/CIT Analytique

## Prélèvements



### ☞ Étiquetage, transport, stockage

- Minimiser contamination et détérioration (tubes droits, pas trop pleins...)
- Prélèvements séparés/ensachés par groupe
- Étiquetage stable au stockage
- Registre clairs avec les doses et les temps

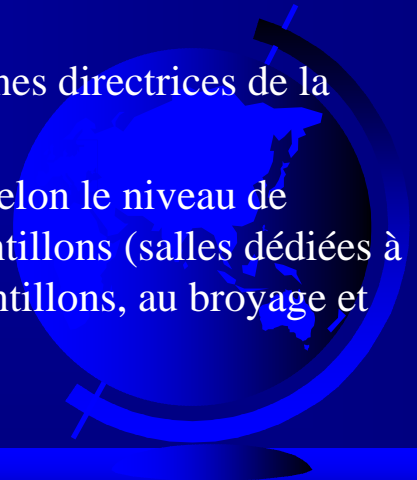
### ☞ Temps

- Tmax
- Autres temps uniquement si Tmax contaminé

### ☞ Méthode

- Quantifier et minimiser « carry-over »
- Vérifier sélectivité dans la même matrice
- Incorporer suffisamment de blancs
- Acceptable de faire les analyses témoins en premier puis par ordre de doses croissantes
- Suivre les « bonnes pratiques analytiques » pour tout ce qui concerne la propreté

- ✓ Procédures de prélèvement, décantation, analyse prennent en compte ces éléments
  - Portoirs/boîtes dédiés
  - Code à barre, étiquette spécifiques pour résister à la congélation
  - Décantation
    - Poste de travail dédié aux témoins
    - Centrifugeuse dédiée
    - Enregistrement de tous les temps, du prélèvement à la congélation (FDA) logiciel CIT
- ✓ Selon souhait du Sponsor, Tmax ou tous les temps
- ✓ Validation selon les lignes directrices de la FDA
- ✓ Laboratoire cloisonné selon le niveau de concentration des échantillons (salles dédiées à la préparation des échantillons, au broyage et aux analyses)



# EFPIA/CIT Analytique

## Prélèvements



### ☞ Validation de la méthode

- Devrait être validée (3-run, et incluant spécificité) avant les études réglementaires

✓ Systématique

### ☞ LOQ

- Devrait être définie selon les niveaux de doses dans les études (afin de définir l'exposition à la NOEL)
- Utiliser les études préliminaires pour définir le niveau de la LLOQ

➤ Sponsor dépendant



# EFPIA/CIT

## Analyse des formulations

### ☞ Temps

- Analyse des formulation le même jour/semaine que TK

✓ Proposé en standard

### ☞ Mélange alimentaire

- Analyse de l'aliment témoin, à partir des mangeoires (contamination croisée, recommandation FDA)

✓ Fait en cas de contamination

### ☞ Méthode

- Manipulation des échantillons identique quelque soit les groupes

✓ OK



# EFPIA/CIT

## Rapport

### ☞ Présentations des résultats

- Dosages des témoins doivent être présentés dans le rapport de TK

- ✓ Procédure spécifique qui reprend tous les éléments

### ☞ Analyse des résultats

- Le rapport de TK doit discuter du niveau de contamination, en fonction de la LOQ et des doses administrées
- Evaluation par le DE, de l'impact sur l'intégrité de l'étude et la validité de son interprétation (même si pas d'impact)
- Si possible statuer sur la cause possible (mais ne pas spéculer)



# EFPIA/CIT

## Aspect BPL

### ☞ Statut BPL de l'étude

- Non modifié

✓ OK

### ☞ Déviati

- En cas de non respect de procédure

✓ Mentionné en déviation dans tous les cas

### ☞ Commentaires

- L'AQ doit s'assurer que les données concernant la contamination sont bien présentées dans le rapport
- La formation du personnel sur les mesures/procédures pour minimiser la contamination doit être documentée

✓ OK

✓ OK



# EFPIA

## Pas encore de consensus

### ☞ Pharmacie

- Bonnes pratiques pour le transport de l'item d'essai

### ☞ Principes généraux

- Procédures pour les produits marqués
- Vérification/validation des procédures de nettoyage

### ☞ Analytique

- Limite acceptable en cas de carry-over





# Procédure CIT :

## « Mesures à prendre en cas de contamination d'échantillons toxicocinétiques d'animaux témoins »

### ☞ Analyse des échantillons

- Analyses séparées des témoins et dans les meilleurs délais
- Ré-analyse (autorisation du DE)
- Analyse du second aliquote

### ☞ Mesures à prendre en cas de contamination

- Enquête sous la direction du DE
  - ◆ Préparation (étiquetage, registres, tickets de pesées...)
  - ◆ Traitements (registres, pesée de bécher...)
  - ◆ Prélèvements (procédure, temps...)
  - ◆ Transport, Décantation et stockage (procédure, temps...)
  - ◆ Analyses (procédure...)
- Éventuelle demande d'analyses complémentaires (métabolites, anti-corps)
- Enquête consignée par écrit (formulaire) dans les données brutes

### ☞ Si constat en cours d'études :

- Exemples de mesures supplémentaires à prendre pour éviter que la contamination ne perdure (procédure spécifique par étude)



# POS :

## « Mesures à prendre en cas de contamination d'échantillons toxicocinétiques d'animaux témoins »

### ☞ Communication

- Information du Moniteur d'Etude (et des PI concernés)
- Le formulaire d'enquête dûment complété est communiqué au Moniteur d'Etude et PI

### ☞ Rapport d'étude

- Causes **connues** ou **non**
  - ◆ Problème de non respect de procédures ou
  - ◆ Problème lié au produit
- Niveau de concentration détecté
  - ◆  $< 10\%$  Cmax = **trace**, autres cas = **significatif**
- Fréquence de la contamination
  - ◆  $< 1/3$  des échantillons témoins = **occasionnelle**, autres cas = **fréquente**
- Contamination **in-vivo** ou **ex-vivo** (présence de métabolites)
- Evaluation de l'**incidence** sur l'étude : (impact en fonction des effets toxicologiques et des résultats de la TK)
  - ◆ Son intégrité
  - ◆ La validité de l'interprétation

### ☞ Aspect BPL

- Mentionné en déviation dans le rapport d'étude



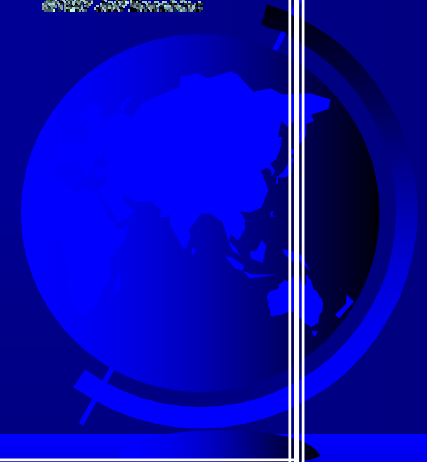
# Formulaire d'enquête

## Avis de Recherche

Pour la santé de nos souris témoins



Cherchons nouveau DE



# Formulaire d'Enquête

## CONTAMINATION D'ECHANTILLON TEMOINS

N° d'étude :  
Item d'étude :  
Titre :  
Directeur d'étude :  
Moniteur d'étude :  
Auditeur qualité responsable de l'étude :  
Technicien responsable de l'étude :

## CIRCONSTANCES

(Evènements et dates du constat)

Contamination constatée :  
En cours d'étude  
Après la fin de l'étude

Redosage :  
Dosage d'un second aliquote :  
Conclusion :

(si accidentelle sur 1 aliquote, s'arrête ici)

## CONSTATEE APRES LA FIN D'ETUDE

(détailler l'enquête et ses résultats)

## ENQUETE

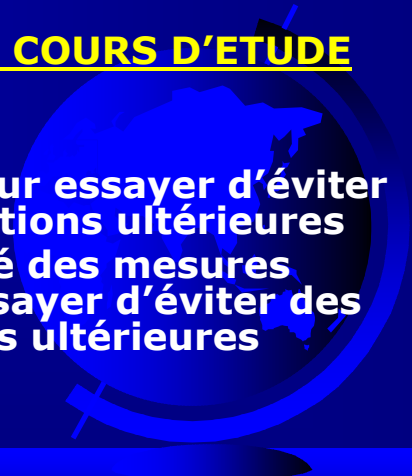
## CONCLUSIONS SUR LA CONTAMINATION

Cause  
Incidence  
Type  
Trace ou significative  
Occasionnelle ou fréquente  
Evaluation de métabolite  
Evaluation des effets toxicologiques

OU

## CONSTATEE EN COURS D'ETUDE

Idem +  
**Mesures prises pour essayer d'éviter  
des contaminations ultérieures**  
**Suivi de l'efficacité des mesures  
prises pour essayer d'éviter des  
contaminations ultérieures**





*"Find out who set up this experiment. It seems that half the patients were given a placebo, and the other half were given a different placebo."*

