

Séminaire Francopa 2022

*Quelles alternatives en expérimentation
animale ?*

Chapitre 3

**Appliquer les réglementations : Contraintes
et besoins**



Utilisation des méthodes alternative dans le contexte des réglementations

Utilisation des méthodes alternatives dans le contexte des réglementations (1)



Pour une substance chimique (ingrédient cosmétique, pesticide, ...) :

Lignes directrices de l'OCDE



Pour un médicament :

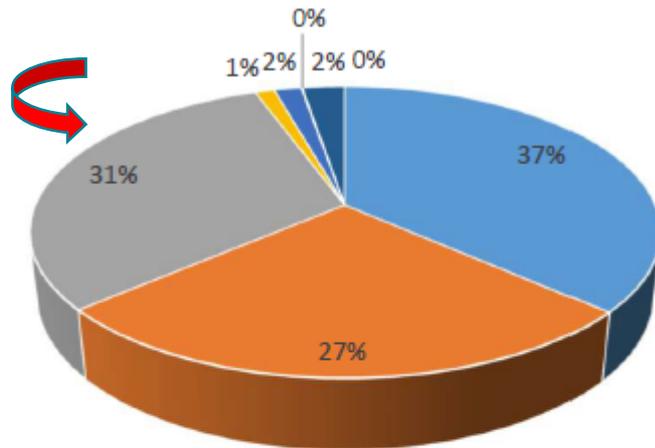
Pharmacopées (Pharmacopée Européenne, ICH, USP, ...)

Dans tous les cas, pour une utilisation réglementaire, la méthode alternative doit passer par un processus d'évaluation et de validation apportant la preuve :

1. Pertinence réglementaire : lacunes, complémentarité avec l'existant, méthode 3R (ex réseau PAREERE de Eurl-ecvam)
2. Pertinence scientifique / Prédicativité : Capacité à prédire les effets chez l'Homme
3. Fiabilité / Reproductibilité : capacité à reproduire les résultats intra et inter-laboratoire et répétabilité.

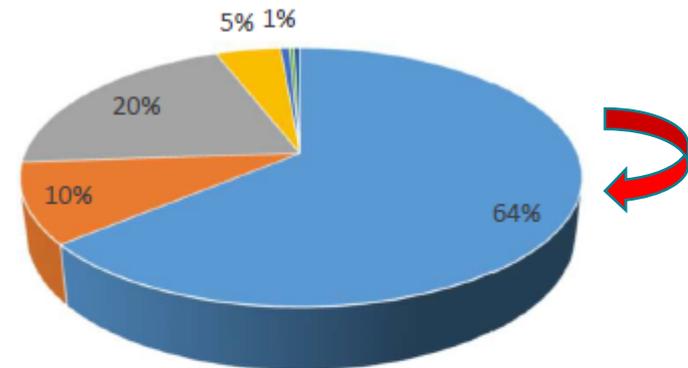
Utilisation des méthodes alternatives dans le contexte des réglementations (2)

Finalité des utilisations d'animaux



- Recherche fondamentale
- Recherche appliquée
- Etudes toxicologiques et réglementaires
- Conservation des espèces
- Formation
- Protection de l'environnement
- Maintenance de colonies
- Enquête médico-légales

Obligations réglementaires



- Produit à usage médical
- Produits à usage vétérinaire
- Appareils médicaux
- Industrie chimique
- Tests de produits phytosanitaires
- Biocides
- Produits alimentaires
- Sécurité des animaux, travailleurs et environnement



L'utilisation des méthodes alternatives pour les médicaments à usage humain

Médicament à usage humain : Recherche & Développement

Autorisation essai clinique

Obtention d'AMM

Phase d'évaluation préclinique

Phase d'évaluation clinique

Recherche et
identification d'une
molécule d'intérêt

Etudes
précliniques

Phase I
Etude toxicité

Phase IV
Pharmacovigilance

Tests de criblage simples,
automatisés si possible à
haut débit

Non réglementaires

In vitro,
in silico,
In chemico

**Tests
Réglementaires**
(guides ICH-EMA)

In vivo
In vitro
***Stratégies de
réduction***

Phase II
Etude efficacité

Phase III
Etude efficacité à
grande échelle

Etudes précliniques : 1^{er} exemple

◆ Etude de génotoxicité : ICH Guideline S2 (R1), EMA/CHMP/ICH/126642/2008

➔ Réduction du nombre d'animaux utilisés :

1) Batteries standard de tests *in vitro* (TGs OCDE) préalable au test sur l'animal :

- i) **A test for gene mutation in bacteria.**
- ii) **An in vitro test with cytogenetic evaluation of chromosomal damage with mammalian cells or an in vitro mouse lymphoma tk assay.**
- iii) **An in vivo test for chromosomal damage using rodent hematopoietic cells.**

2) Intégration de l'essai de génotoxicité *in vivo* dans les essais de toxicité à doses répétées (TG OCDE 407)

Etudes précliniques : 2^{ème} exemple

◆ Etudes de pharmacocinétique (ADME) – ICHM3(R2)/EMA

➔ *Réduction du nombre d'animaux utilisés :*

- 1) **Etude du métabolisme** : Méthodes *in vitro* pour comparaison du métabolisme inter-espèces (Cyp450, liaison aux protéines, ...) Modèles : microsomes et culture hépatocytes (1D, 2D, **3D**)
- 2) **Absorption intestinale** sur lignée cellulaire Caco 2

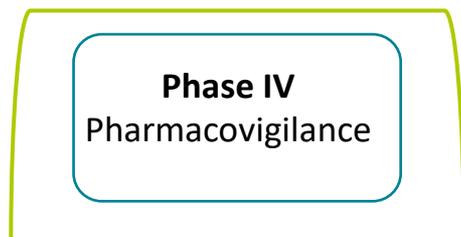
➔ *Les organes sur puce (OoC) multi-organes en systèmes microfluidiques dynamiques sont des modèles innovants et prometteurs en pharmacocinétique*

Médicament à usage humain : Contrôle Qualité

Obtention d'AMM



Phase d'évaluation clinique



Production des lots

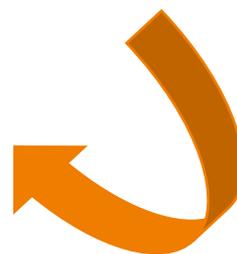
Contrôle Qualité-Sécurité

Tests réglementaires (dossier
& pharmacopées)
In vivo
physicochimiques, In vitro, ...
Stratégies 3R

Autorité de Contrôle (OMCL)

Référentiels : Dossier & Pharmacopée

- **Surveillance du marché**
(physicochimiques, *in vitro*)
- **Libération des lots** (ex : vaccins) (*in vivo-in vitro-stratégies 3R*)



Les méthodes alternatives Contrôle Qualité

Cas du vaccin



Contrôle Qualité vaccins : Procédure de libération des lots – 3R

Contrôle lot à lot par le fabricant (dossier d'AMM, Qualité & Sécurité)
➔ Contrôle de tous les lots par une autorité de contrôle
(réseau des OMCLs/EDQM)

◆ Stratégie 3R de l'EDQM :

- Reconnaissance mutuelle entre OMCLs du réseau
- Recommandations de la Commission Européenne de la Pharmacopée pour le remplacement des méthodes *in vivo* par des méthodes *in vitro* (Chapitre général vaccins 5.2.14 - Pharm. Eur.)

Contrôle Qualité vaccins :

Exemples de méthodes/stratégies 3R

◆ Essai de sécurité :

Remplacement définitif en 2026 du test de pyrogénicité chez le lapin (Ph. Eur. 2.6.8.), par des méthodes *in vitro* :

- ➔ Recherche des endotoxines bactériennes (Tests LAL/rFc) ou
- ➔ MAT (cellules PBMC/dosage IL6).

◆ Essais d'activité :

1) **Stratégie de raffinement** : passage du tests de «challenge» à une méthode sérologique (dosage des Ac par méthode immunoenzymatique).

- ➔ Ex valences diphtérie, tétanos, coqueluche

2) **Stratégie de réduction** :

- Passage d'un protocole en multi-doses à un protocole en mono-dose.
 - ➔ Ex valences diphtérie & tétanos.
- Contrôle d'un lot sur 5 par exemple

3) **Stratégie de remplacement** : Teneur en antigène dans le vaccin,

- ➔ Ex valences poliomyélites inactivées, Hépatite A.

Concept de dispense ou « Waiving »

◆ Eviter un test inutile sur l'animal est la voie la plus utilisée par les réglementations : *Quelques exemples*

- Partage des données entre les différents secteurs (chimique, cosmétique, phytosanitaire, médicament, etc..)
- Reconnaissance mutuelle (ICH, EDQM)
- Suppressions de tests : ex, toxicité anormale supprimée des monographies Pharm. Eur.)
- Concept de dispense ajouté à la monographie générale pour les vaccins à usage vétérinaire (0062)
- Stratégies de tests intégrés (ITS/IATA), essai sur l'animal en dernier recours

Waiving animal testing for regulatory purposes – Workshop in Paris, september 1st 2011



Autre notion importante

◆ Les Apports et les limites → Utilisation dans :

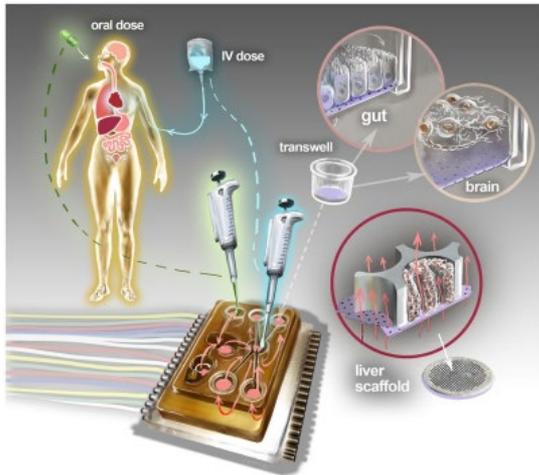
- Batteries de tests complémentaires
- Modélisation des mécanismes de toxicité (AOP)
- Approches intégrées (ITS/IATA).
 - ➔ Amélioration de la prédictivité chez l'Homme

Perspectives réglementaires pour les nouveaux modèles

Exemple: les organes sur puces

Les nouveaux modèles, NAM

Ex : Les organes sur puces



Reconstitution des organes miniatures modélisant la **physiologie** et les **pathologies humaines**

Illustration by Victor O. Leshyk (www.nature.com/scientificreports)
Newsletter Francopa, Numéro 12 – Mars 2019

Besoin de standardisation :

- Consensus sur la définition
- Elaboration de normes :
- Evaluation des performances techniques (microfluidique, microelectronique, nanocapteurs)
- Evaluation des performances biologiques (modèle(s) organe(s)).

Les organes sur puces

Etat de l'art vers la réglementation

◆ Etats-Unis

- ➔ En 2017 : Promotion des OoC : FDA's Predictive Toxicology Roadmap
- ➔ Collaborations avec parties prenantes, Fabricant : ex Emulate Inc, CN-Bio
- ➔ En 2019 : Workshop avec 46 experts internationaux.

Marx et al, Biology-inspired microphysiological systems to advance patient benefit and animal welfare indrug development. ALTEX. 2020;37(3):365-394.

◆ Europe

- ➔ Projet ORCHID (Organ on Chip Development) : créer une feuille de route pour les technologies OoC : 
- ➔ Création de la société EUROoCS (2018) : plateforme pour l'élaboration de lignes directrices pour les utilisateurs finaux
- ➔ JRC (Commission Européenne) et CEN-CENELEC (Comité européen de normalisation) : Etablissement de normes :« *Putting Science into Standards* » *Workshop organ on chip: building a roadmap towards standardisation (avril 2021)*

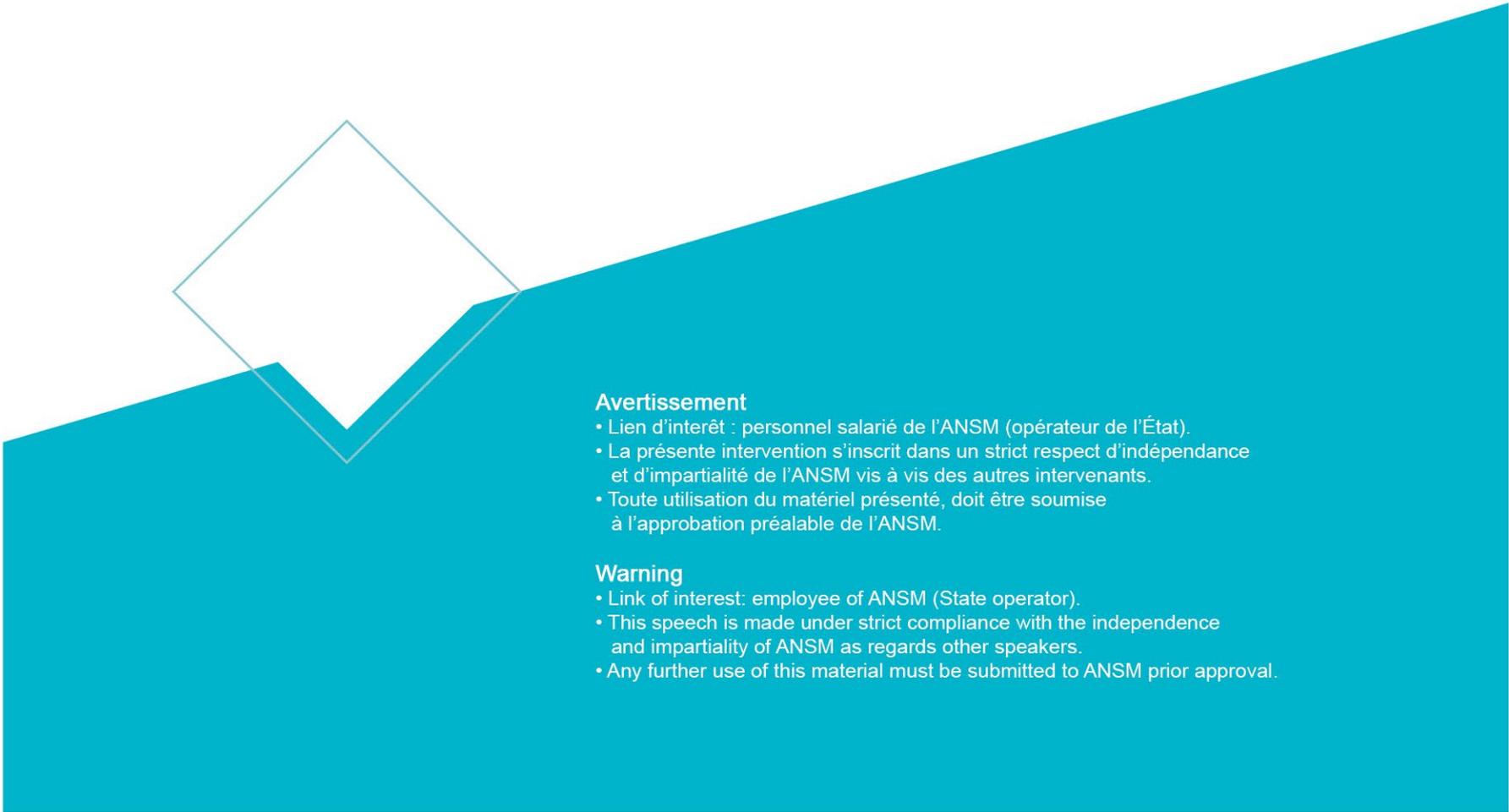
Conclusion

Conclusion

- ◆ Programme de recherche européen Horizon 2020 avec une implication des acteurs réglementaires :
 - VAC2VAC : libération des lots des vaccins D,T,aP– méthodes *in vitro*
 - EUROoCS : normalisation des Organes sur puces (OoC)
- ◆ Le processus de validation doit évoluer et s'adapter aux nouveaux modèles/approches, plus complexes, basés sur les connaissances mécanistiques comme les AOP, les approches intégrés, les OoC.
 - ➔ *modification de l'environnement réglementaire nécessaire*
- ◆ Collaborations au niveau international & entre les parties prenantes
 - ➔ *harmonisation et acceptation internationale (OCDE, ICH/VICH, OMS)*

Merci de votre attention !



The background of the slide is a solid teal color. A white diamond shape is positioned on the left side, partially overlapping the teal area. The diamond is tilted and has a thin white outline.

Avertissement

- Lien d'intérêt : personnel salarié de l'ANSM (opérateur de l'État).
- La présente intervention s'inscrit dans un strict respect d'indépendance et d'impartialité de l'ANSM vis à vis des autres intervenants.
- Toute utilisation du matériel présenté, doit être soumise à l'approbation préalable de l'ANSM.

Warning

- Link of interest: employee of ANSM (State operator).
- This speech is made under strict compliance with the independence and impartiality of ANSM as regards other speakers.
- Any further use of this material must be submitted to ANSM prior approval.