

NOTE DE SYNTHÈSE RELATIVE A L'ENSEMBLE DES ESSAIS MIS EN ŒUVRE DANS LE CADRE DE LA COLLABORATION EFS/ANSM SUR LES DISPOSITIFS D'APHERÈSE

N° 17-A-0305

INTRODUCTION

Rappel du contexte

Dans le cadre d'une action visant à vérifier des allégations avancées par un lanceur d'alerte sur la présence possible de particules de joints carbone dans les PSL prélevés et préparés avec les dispositifs médicaux à usage unique (DMU) d'aphérèse Haemonetics, une collaboration entre l'EFS et l'ANSM a été initiée de manière à rechercher la présence de ces particules dans les liquides circulants dans les parties dites « humides » des dispositifs. Cette évaluation est réalisée au niveau des contrôles par une recherche de contamination particulaire d'une part et une analyse par Microscopie Electronique à Balayage (MEB) couplée à une analyse élémentaire par spectrométrie de fluorescence X (EDX), d'autre part.

Principe des études

Le principe de ces études est basé sur la simulation d'aphérèse en respectant au maximum les conditions réelles de fonctionnement et où le « donneur » est remplacé par un flacon d'eau Aqua B. Braun. En effet, le sang comporte un grand nombre d'éléments figurés incompatibles avec la recherche de particules apportées par les aphérèses. De plus, les essais ont été réalisés pour étudier un possible entraînement mécanique des particules et non une possible interaction chimique entre le sang/plasma et le DMU.

Déroulement des expériences

Dans un premier temps, les analyses ont été effectuées après des simulations d'aphérèse avec l'automate Haemonetics PCS2 fonctionnant avec le DMU référence 782HS-P-SL. Deux lots de DMU ont été utilisés pour les essais : lot 8816002 et lot 8716080 (lot qui a fait l'objet d'allégations).

Dans un second temps, les analyses ont été effectuées après des simulations d'aphérèse avec l'automate Haemonetics MCS+ fonctionnant avec les DMU référence 998CF-FP-SL et référence 999FF-P-SL.

Puis trois autres automates utilisés au sein de l'EFS ont été évalués :

- l'automate Amicus (Fenwal/Fresenius Kabi) fonctionnant avec le DMU d'aphérèse D4R2307 (Fenwal/Fresenius Kabi),
- l'automate Autopheresis-C (Fenwal/Fresenius Kabi) fonctionnant avec le DMU de plasmaphérèse D4R2205 (Fenwal/Fresenius Kabi),
- l'automate Trima Accel (Terumo) fonctionnant avec le DMU d'aphérèse 82383 (Terumo).

Pour ces trois derniers automates, seule la recherche de contamination particulaire a été effectuée.

Après avoir décrit les méthodes et référentiels utilisés, cette note résume dans une première partie les résultats obtenus avec les automates Haemonetics PCS2 et Haemonetics MCS+ et dans une deuxième partie les résultats obtenus avec les automates Amicus, Autopheresis-C et Trima Accel pour lesquels seules les analyses de contamination particulaire ont été mises en œuvre.

1 / CONTAMINATION PARTICULAIRE

1.1. Comptage des particules non visibles

Environ 50 mL des échantillons obtenus suite aux aphéreses sont transférés en évitant la formation de bulles d'air dans de la verrerie (bêcher 200 mL) nettoyée et contrôlée pour être exempte de particules selon la Pharmacopée Européenne (Ph. Eur.) Chapitre 2.9.19.

La réalisation du comptage des particules non visibles est effectuée selon la méthode 1 de la Ph. Eur. Chapitre 2.9.19. / USP <788> (par blocage de la lumière) avec compteur de particules AccuSizer SIS (Particle Sizing Systems Inc.).

Il est à noter qu'afin de garantir la qualité des résultats, une vérification de l'appareillage a été réalisée avant le démarrage des différents comptages. Cette vérification a consisté à des essais de résolutions à l'aide d'étalons de 10 µm et 25 µm calibrés en taille et à la réalisation d'un essai de comptage à l'aide d'un étalon de 15 µm calibré en concentration et en taille de particules. Les résultats obtenus sont conformes.

1.2. Comptage des particules visibles

Réalisation du comptage des particules visibles selon une méthode adaptée de la Ph. Eur. Chapitre 2.9.20. / USP <790>. L'observation a été réalisée par plusieurs opérateurs sur fonds blanc et noir disponibles au laboratoire éclairés par 2 rampes de 2 ampoules chacune (intensité mesurée de 2300-2400 lux en bas des panneaux noirs et blancs et 3800-3900 lux au centre).

Au niveau de la procédure suivie, 50mL environ de solution ont été transférés dans un bêcher pour l'analyse de contamination particulaire (particules non visibles) et le reste dans les bouteilles HPLC (bouteilles en verre transparent de phases mobiles HPLC (1L) rincées plusieurs fois à l'eau MilliQ avant le transfert).

Pour la recherche des particules visibles, l'ensemble des échantillons (bouteilles HPLC + bécchers) a été observé par plusieurs opérateurs (de 2 à 4 selon les automates).

Il faut noter cependant qu'à l'ouverture des DMU, un phénomène d'électricité statique attire un grand nombre de poussières et de fibres textiles sur l'extérieur des différentes parties de celui-ci, du filtre et des tubulures. Dès lors, malgré toutes les précautions prises, une contamination extérieure en particules visibles (particules provenant de la coupe des tubulures, fibres textiles, ...) ne peut être exclue.

1.3. Référentiels

- **Pharmacopée Européenne**

Chapitre 2.9.19 Contamination particulaire : particules non visibles qui s'applique aux préparations injectables et aux préparations pour perfusion.

Les critères applicables pour l'évaluation des récipients de contenance nominale supérieure à 100 mL pour la méthode 1 sont : « *La préparation satisfait à l'essai si le nombre moyen de particules présentes dans les unités examinées n'est pas supérieur à 25 par millilitre pour les particules de taille supérieure ou égale à 10 µm et à 3 par millilitre pour les particules de taille supérieure ou égale à 25 µm* ».

A noter que ces spécifications (nombre de particules par unité de volume) sont indépendantes de la nature élémentaire des particules (caractéristiques physiques et non chimiques).

Chapitre 2.9.20 Contamination particulaire : particules visibles qui s'applique aux préparations injectables et aux préparations pour perfusion.

Il s'agit d'une « *évaluation visuelle de la qualité des solutions parentérales en ce qui concerne les particules visibles* ».

- **Norme EN ISO 3826-4** (octobre 2015) qui traite des « Poches en plastique souple pour le sang et les composants du sang – partie 4 : Système de poche d'aphérese pour le sang avec accessoires intégrés » mentionne en chapitre 6.2.11, les exigences en matière de contamination particulaire.

Dans ce chapitre il est écrit : « *les poches plastiques doivent être fabriquées de manière à réduire le plus possible la contamination par des particules* ».

En Note de ce chapitre, il est indiqué : « *Les limites et les procédures d'essais données par les Pharmacopée, par exemple celles spécifiées par la Pharmacopée européenne pour les solutions parentérales, peuvent être appliquées aux systèmes de poches d'aphérèse pour le sang...* ».

Compte tenu de l'analyse de ces différents référentiels, il est admis dans cette note que les résultats de la contamination particulaire peuvent se référer aux spécifications de la Pharmacopée Européenne.

2 / ANALYSE DES ECHANTILLONS ET RECHERCHE DES PARTICULES PAR MICROSCOPIE ELECTRONIQUE A BALAYAGE MEB

Technique : Microscopie électronique à balayage couplée à la spectrométrie de fluorescence X

Appareillage : ZEISS EVO 15 HD couplé à un détecteur OXFORD.

Préparation des échantillons : ANSM

Laboratoire sous-traitant pour la mise en œuvre de l'analyse MEB : Institut Européen des Membranes, dans le cadre de la convention établie entre l'Université de Montpellier et l'ANSM.

2.1. Préparation des échantillons pour l'analyse MEB

▶ Matériel utilisé :

- membranes nitrocellulose diamètre 13 mm porosité 0,22 µm : référence Millipore GSWP01300,
- portes filtre : référence Millipore SX0001300 utilisé pour les filtres de diamètre 13 mm,
- seringues de 5 ml stériles (0,8x40mm) Terumo référence 21G x 1 ½ utilisées pour les filtres de diamètre 13 mm,
- membranes nitrocellulose diamètre 47 mm porosité 0,22 µm : référence Millipore GSWP04700,
- eau MilliQ produite au laboratoire.

▶ Filtration sur membranes de diamètre 13 mm :

Ces filtrations concernent : le filtre en ligne, le blanc eau MilliQ et le blanc ACDA (anticoagulant) dilué 1/5.

Les solutions contenues dans les filtres en lignes du dispositif DMU ont été filtrées en inversant le dispositif c'est-à-dire en introduisant 10mL d'eau MilliQ par le coté où il n'y a qu'une seule voie puis récupération de 20mL de solution (10mL contenu dans le porte filtre + 10 mL d'eau MilliQ).

La procédure suivante a été suivie :

- les portes filtre sont préalablement rincés avec 3 volumes de seringue d'eau MilliQ afin d'éviter l'apport des particules par la seringue et le porte filtre,
- le filtre est positionné dans le porte filtre,
- filtration lente de la solution à analyser,
- le système est purgé avec une seringue d'air.

▶ Filtration sur membranes de diamètre 47 mm :

Compte tenu des volumes conséquents obtenus en fin de simulation d'aphérèses pour les flacons donneurs et poches plasma, une filtration sur Büchner avec membranes de plus grand diamètre a été retenue.

Un rinçage avec de l'eau MilliQ du dispositif Büchner avec vérification de la contamination particulaire a été réalisé au préalable.

La procédure suivante a été suivie :

- rinçage à l'eau MilliQ du système de filtration Büchner à vide
- positionnement de la membrane de 47 mm de diamètre
- filtration de la totalité d'un échantillon donné (contenu du flacon donneur ou de la poche plasma)
- rinçage avec 200 mL d'eau MilliQ pour limiter la présence d'anticoagulant sur les membranes

A noter que les filtres en nitrocellulose ont été préférés aux filtres en GHP car ils sont moins cassants une fois secs mais aussi dans la mesure où l'on ne recherche pas de protéines (la présence d'azote dans les filtres ne pose pas problème puisque l'on ne travaille pas sur des échantillons réels de sang total ou de plasma contenant des protéines).

2.2. Analyse MEB

Les essais ont été réalisés après traitements par métallisation au carbone. Seule l'analyse spécifique de recherche de la particule incrustée dans le bol a été réalisée avec une métallisation au platine.

D'un point de vue méthodologique, en première intention et de manière à disposer d'une vue d'ensemble :

- sur les petits filtres (diamètre 13 mm) : une photo a été systématiquement prise avec un grossissement x 30. Puis 5 photos à un grossissement x 100 ont été prises avec analyse le cas échéant des particules trouvées,
- sur les grands filtres (diamètre 47 mm) : 5 grossissements x 30 et 5 grossissements x 100 ont été réalisés.

Des spectres ont été systématiquement enregistrés et traités sur chaque échantillon de manière à avoir une composition type des échantillons : éléments majoritaires et minoritaires détectables par la technique. A noter que certains éléments ne sont pas détectés, comme l'hydrogène par exemple.

Dans un deuxième temps, une recherche plus approfondie en utilisant des grossissements plus forts a été réalisée sur les 5 zones préalablement définies et aux alentours de manière à rechercher d'éventuelles présences de particules. A noter que cette recherche ne peut pas être exhaustive sur la totalité du filtre compte tenu de l'étendue de l'échantillon sur la membrane et de la taille des particules analysées. De plus, pour chaque échantillon, les tailles approximatives des particules observées ont été relevées et l'analyse de certaines d'entre elles a été réalisée.

L'analyse des échantillons par MEB ne constitue ainsi pas une analyse exhaustive de l'ensemble des agglomérats potentiellement présents dans l'échantillon et seule une analyse qualitative des éléments détectés est effectuée.

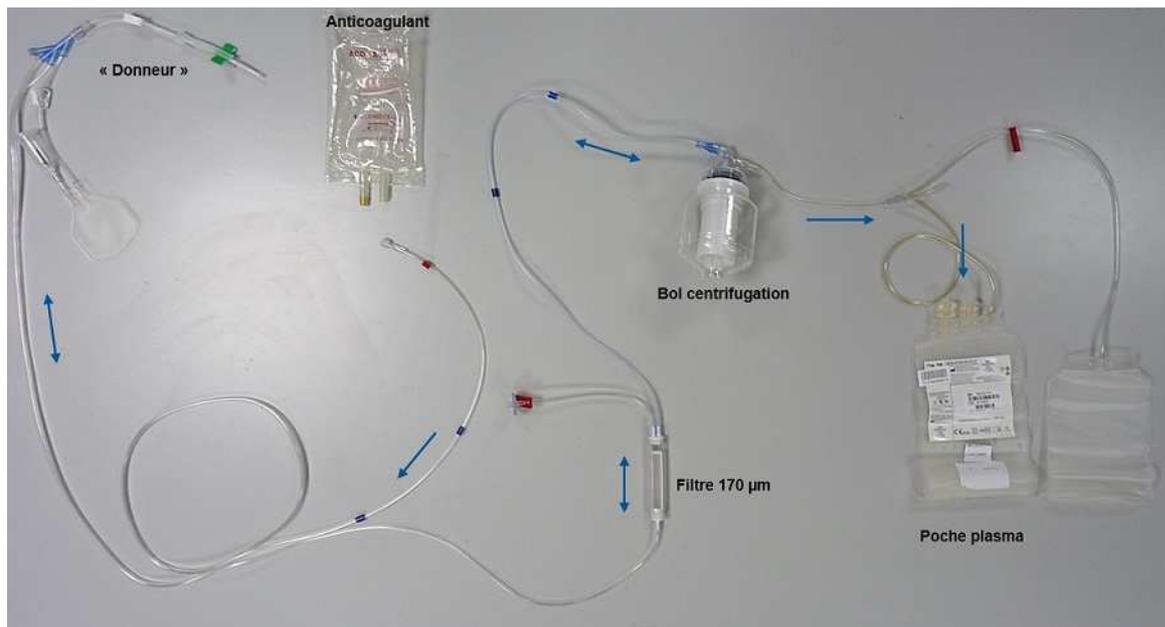
A noter que malgré toute les précautions prises pour éviter la contamination extérieure en particules des échantillons analysés (flacons donneurs et poches plasma), il ne peut être exclu que des particules provenant des manipulations (coupures des tubulures, poussières, fibres, ...) se retrouvent sur les membranes analysées. Ainsi, au niveau des résultats MEB, ont été exclues les particules isolées et atypiques par rapport aux échantillons, provenant vraisemblablement de contamination extérieure. Seules les particules régulièrement retrouvées et typiques des échantillons analysés ont été retenues.

Les descriptions de ces méthodes sont valables pour l'ensemble des analyses (contamination particulaire et analyse MEB) décrites dans cette note.

Remarque : selon les différents DMU étudiés, l'anticoagulant (ACDA) peut être de provenance/marque différente

B/ AUTOMATES PCS2 ET MCS+

1 / AUTOMATE PCS2 ET DMU REF 782HS-P-SL



1.1. Obtention des échantillons

Des simulations d'aphérèses ont été réalisées en remplaçant le donneur par un flacon d'eau Aqua B. Braun. De manière à réaliser le montage, la tubulure côté donneur contenant initialement l'aiguille de prélèvement a été coupée aux ciseaux de manière à la plonger directement dans le flacon donneur.

Les simulations d'aphérèses ont été réalisées en respectant au maximum les conditions réelles de fonctionnement : 7 cycles de 400 mL d'eau Aqua B. Braun (en remplacement du sang total), avec pour chaque cycle un recueil d'environ 120 mL d'eau dans la poche plasma, soit pour une aphérèse complète de 7 cycles un volume nécessaire de 1,2 L d'eau Aqua B. Braun. A noter que 250 mL d'ACDA sont utilisés au cours de l'aphérèse qui se retrouvent au final dans le flacon donneur et la poche plasma.

Des simulations d'aphérèse ont été réalisées en conditions « normales » mais également en conditions « forcées » susceptibles de générer des particules (mise en pression du bol en cours de fonctionnement par pincements contrôlés de la ligne sortie plasma).

1.2. Comptage particulaire non visible

Une première partie a consisté aux contrôles des conditions opératoires et du matériel avant passage de l'automate PCS2.

Dénomination	Référence	Lot	Condition	Contenance estimée (mL)	≥ 1 µm part./mL	≥ 5 µm part./mL	≥10 µm part./mL	≥ 25 µm part./mL
			Spécifications Ph. Eur. 2.9.19. méthode 1		/	/	≤ 25 part./mL	≤ 3 part./mL
Anticoagulant ACDA	Macopharma	16K16A	-	500	424	52	15	0
Poche de transfert	Macopharma VSE 6002Z	1613 15C30	T0	450	7 049	625	62	0
Poche de transfert	Macopharma VSE 6002Z	1613 15C30	T+20 min	400	7 709	720	83	0
Poche plasma	Haemonetics 782HS-P-SL	8816002	T0	500	355	23	3	0
Poche plasma	Haemonetics 782HS-P-SL	8816002	T+25 min	550	566	39	5	0
Eau purifiée pour irrigation	B. Braun 75/12604016/0410	164478001	Dans bouteille	1000	31	2	0	0

Commentaire

- L'anticoagulant ACDA nécessaire à la réalisation d'une plasmaphérèse comporte peu de particules non visibles et a donc pu être utilisé pour les contrôles.
- Les poches de plasma issues d'un DMU de plasmaphérèse 782HS-P-SL (lot 8816002) comportent peu de particules non visibles et sont donc utilisables pour nos contrôles.
- Les poches de transfert Macopharma qui dans un premier temps devaient être utilisées en tant que réservoir donneur comportent un grand nombre de particules non visibles et de plus ne sont pas conformes aux spécifications de la Ph. Eur. Chapitre 2.9.19. (nombre de particules de taille supérieure ou égale à 10 µm supérieur à 25 particules par mL). Elles ne seront pas utilisées dans la suite des essais et remplacées par de l'eau purifiée B. Braun en bouteille qui comporte très peu de particules non visibles et peut donc être utilisée dans nos contrôles (qualité proche de l'eau exempte de particules).

Les résultats du contrôle de l'automate PCS2 sont présentés ci-dessous :

Etiquette EFS N° LIMS ANSM	Dénomination	Référence	Lot	Condition	Contenance estimée (mL)	≥ 1 µm part./mL	≥ 5 µm part./mL	≥ 10 µm part./mL	≥ 25 µm part./mL
				Spécifications Ph. Eur. 2.9.19. Méthode 1		/	/	≤ 25 part./mL	≤ 3 part./mL
72 7 0018751 9 17-00655-00667 Réalisé le 20/02/2017	Réservoir donneur	B. Braun 75/12604016/0410	164478001	Normale	431	174	7	1	0
	Poche Plasma	Haemonetics 782HS-P-SL	8816002		829	3 017	245	16	0
72 7 0018754 3 17-00663-00674 Réalisé le 21/02/2017	Réservoir donneur	B. Braun 75/12604016/0410	164478001	Forcée Explosion du bol	703	400	31	4	0
	Poche Plasma	Haemonetics 782HS-P-SL	8816002		387	4 766	554	124	0
72 7 0018757 8 17-00667-00678 Réalisé le 21/02/2017	Réservoir donneur	B. Braun 75/12604016/0410	164478001	Normale	362	18	2	1	0
	Poche Plasma	Haemonetics 782HS-P-SL	8716080		854	2890	226	15	0
72 7 0018760 7 17-00670-00681 Réalisé le 21/02/2017	Réservoir donneur	B. Braun 75/12604016/0410	164478001	Forcée	372	18	2	1	0
	Poche Plasma	Haemonetics 782HS-P-SL	8716080		844	2242	164	11	0
72 7 0018763 1 17-00685-00695 Réalisé le 22/02/2017	Réservoir donneur	B. Braun 75/12604016/0410	164478001	Normale	381	26	2	1	0
	Poche Plasma	Haemonetics 782HS-P-SL	8816002		834	1787	146	8	0
72 7 0018764 17-00687-00696 Réalisé le 22/02/2017	Réservoir donneur	B. Braun 75/12604016/0410	164478001	Forcée	409	11	3	1	0
	Poche Plasma	Haemonetics 782HS-P-SL	8816002		829	2752	209	12	0
72 7 0018759 4 17-00669-00680 Réalisé le 27/02/2017	Réservoir donneur	B. Braun 75/12604016/0410	164478001	Normale	380	24	5	2	0
	Poche Plasma	Haemonetics 782HS-P-SL	8716080		850	805	49	3	0
72 7 0018762 3 17-00672-00683 Réalisé le 27/02/2017	Réservoir donneur	B. Braun 75/12604016/0410	164478001	Forcée	384	12	1	0	0
	Poche Plasma	Haemonetics 782HS-P-SL	8716080		837	2042	98	3	0
72 7 0018753 5 17-00662-00673 Réalisé le 27/02/2017	Réservoir donneur	B. Braun 75/12604016/0410	164478001	Normale	386	20	4	3	0
	Poche Plasma	Haemonetics 782HS-P-SL	8816002		850	1102	50	3	0
72 7 0018756 17-00665-00676 Réalisé le 27/02/2017	Réservoir donneur	B. Braun 75/12604016/0410	164478001	Forcée	582	303	28	8	0
	Poche Plasma	Haemonetics 782HS-P-SL	8816002		504	3775	154	7	0

Remarque 1

La première expérience réalisée le 20/02/2017 (lot 8816002, condition normale) avec pour réservoir donneur une poche plasma issue d'un DMU de plasmaphérèse 782HS-P-SL (lot 8816002) remplie d'eau exempte de particules (eau MilliQ 0,22 µm) a de nouveau été réalisée le 22/02/2017 avec de l'eau B. Braun comme réservoir donneur afin d'avoir les mêmes conditions expérimentales établies le 21/02/2017.

Remarque 2

Une forte détérioration du DMU a eu lieu lors de la première expérience le 21/02/2017 (lot 8816002, condition forcée), ce qui a eu pour conséquence un mouillage excessif du joint et l'arrêt de la plasmaphérèse (volume obtenu dans la poche plasma inférieur aux 850 mL attendus). Afin de vérifier ces résultats et d'être dans une situation proche de la réalité, une expérience a de nouveau été réalisée le 22/02/2017 sans mouillage excessif du joint.

Commentaire

- Les résultats obtenus sont conformes à la Ph. Eur. Chapitre 2.9.19, excepté pour l'expérience ayant provoqué une détérioration du bol.
- Aucune particule $\geq 25 \mu\text{m}$ n'est retrouvée que ce soit pour le réservoir donneur ou la poche plasma et ceci pour toutes les simulations d'aphérèse réalisées.
- Le nombre de particules non visibles retrouvé apparait cohérent entre les différentes expériences. De plus, les résultats obtenus pour une même condition (mode normal ou forcé) mais sur deux aphérèses indépendantes sont similaires.
- Il apparait également que le nombre de particules non visibles est chaque fois plus élevé dans les poches plasma que dans les réservoirs donneur. A noter cependant que les poches plasma subissent une filtration complémentaire si elles doivent être utilisées pour un usage thérapeutique direct et transfusées chez un receveur.
- Enfin, le nombre de particules non visibles dans les réservoirs (flacons) donneur et dans les poches plasma sont du même ordre de grandeur malgré des conditions différentes. Il n'apparait pas de différences entre les deux lots de DMU testés (8816002 et 8716080) et entre les deux conditions testées (normale et forcée).

1.3. Recherche des particules visibles

La recherche des particules visibles a été effectuée sur les réservoirs donneurs et les poches plasma issues des 4 dernières aphérèses consignées dans le tableau ci-dessus « résultats du contrôle de l'automate PCS2 ».

Etiquette EFS N° LIMS ANSM	Dénomination	Référence	Lot	Condition
72 7 0018759 4 17-00669-00680	Réservoir donneur	B. Braun 75/12604016/0410	164478001	Normale
	Poche Plasma	Haemonetics 782HS-P-SL	8716080	
72 7 0018762 3 17-00672-00683	Réservoir donneur	B. Braun 75/12604016/0410	164478001	Forcée
	Poche Plasma	Haemonetics 782HS-P-SL	8716080	
72 7 0018753 5 17-00662-00673	Réservoir donneur	B. Braun 75/12604016/0410	164478001	Normale
	Poche Plasma	Haemonetics 782HS-P-SL	8816002	
72 7 0018756 17-00665-00676	Réservoir donneur	B. Braun 75/12604016/0410	164478001	Forcée
	Poche Plasma	Haemonetics 782HS-P-SL	8816002	

Commentaire

Au niveau des résultats, des particules visibles de types plastiques (contamination possible lors de la coupe de tubulure) et fibres ont été observées dans certains échantillons dont le blanc eau. Néanmoins, aucune particule noire qui aurait pu être issue du joint n'a été observée dans l'ensemble des échantillons testés.

1.4. Résultats de l'analyse MEB

A des fins de comparaison, des blancs ont été réalisés. En ce qui concerne l'ACDA, une analyse du produit dilué ou pur a été réalisée pour s'approcher des conditions rencontrées en simulations d'aphérèse. En ce qui concerne le joint, chaque partie du joint de nature différente (joint noir, joint gris, céramique rose) a été étudiée séparément.

Photo du joint



Echantillon		Observation	Taille (µm)	Éléments présents sur la membrane ou dans l'échantillon sur le portoir (joints et bol)		Éléments présents dans les particules (P) et fibres (F) analysées
				majoritaires	minoritaires	
-	<i>O Blanc eau 13 mm</i>	particules inorganiques	5 - 45	C, O, N	S	P1 (~45µm) : Si, Al, K, Na, P2 (~10µm) : Si, Al, Na P3 (~10µm) : Mg, Si, Al
	<i>M Blanc eau 47 mm</i>	Peu de particules organiques et inorganiques, fibres	10	C, O, N	S	P1 et P2 (~10µm) : Si, Mg, P3 (~10µm) : Si P4 et P5 (~10µm) : Si, Na, Al
	<i>P Blanc ACDA dilué 13 mm</i>	particules organiques et inorganiques, fibres	2 - 25	C, O, N	S	P1 (~5µm) : Si, Na, Ca, Mg, K, Al P2 (~10µm) : Fe, Ni, Cu, P3 (~10µm) : Ca, Na P4 (~2µm) : Fe, Zn, Si, P5 (~10µm) : Si, Na, Mg, Al P6 (~10µm) : Na, P7 (~10µm) : Ca P8 (~3µm) : Fe, Na, P9 (~10µm) : Cu, Si P10 (~10µm) : Si, P11 (~10µm) : Si, Ca, Fe, Mg, Al, Na P12 (~25µm) : Ti, Si, Al, K
	<i>Blanc ACDA pur</i>	particules organiques et inorganiques, fibres	3 - 35	C, O, N	S	P1 (~3µm) : Na, Si, P2 (~3µm) : Na, Si, Al P3 (~15µm) : Si, Ca, Al, K, Na, Fe, Mg, P, Cl P4 et P5 (~35 et 50 µm) : C, O, N, Si, Na P6 (~35µm) : C, O, N, Na, Si, Mg, P7 (~5µm) : Si, Mg, Na P8 (~5µm) : Mg, Si, Al, Na, P9 (~30µm) : C, O, N, Na, Si P10 (~10µm) : Si, Mg, Al, Na, K, P11 (~5µm) : Na, Cl, Si, Mg, P12 (~5µm) : Na, P13 (~10µm) : Si, Mg, Na P14 (~5µm) : Si, Al, K, Mg, Na, Fe, P15 (~5µm) : Mg, Si, Al, Fe, Na
	<i>Joint noir poudre</i>	-	-	C, O, Zn, Si, Al	-	-
	<i>Joint gris</i>	-	-	C, O, Si	-	-
	<i>Céramique rose</i>	-	-	C, O, Al, Si	Mg, P, Ca	-
17D00656-00668 <i>Conditions normales DMU lot 8816002</i>	Flacon donneur	particules organiques et inorganiques, fibres	2 - 60	C, O, N	S	P1 (~60µm) : Ca, P2 et P3 (~15µm) : C, O, N P4 (~2 µm) : Fe, Cr, P5 (~2 µm) : Ca, Si, Al P6 (~40µm) : Si, Al, Na, F1 (long ~30µm) : C, O, N, S
	Poche plasma	particules organiques et inorganiques, fibres	3 - 15	C, O, N	S	P1 (~10µm) : Na, Cl, K, Ca, P2 (~3µm) : Cl, Na, Mg P3 (~5 µm) : Si, Na, Al, P5 (~15 µm) : Al, Cl

	Filtre en ligne	nombreuses particules organiques et inorganiques, fibres	2 - 250	C, O, N	S	P1 (~15µm) : Si, Ti, Al, Na P2 et P3 (~5 et 250µm) : Na, Cl, K, Si, Al P4 (~5µm) : Na, Cl, K, Ca, P5 (~30µm) : Ca, Na, Si, Cl, K, Al P6 (~15µm) : Cl, Na, F, Si, Ca, K F1 (long ~203µm) : C, O, N, K, Cl P7 (~15µm) : Si, Mg, S, P8 (~2µm) : Fe, Cr, Cl, Si P9 (~10µm) : Ca, Fe, Si, Al, Mg P10 et P11 (~2 et 5µm) : Si, Ca, Al, Fe, K, Mg
17D00664-00675 Conditions forcées DMU lot 8816002	Flacon donneur	particules organiques et inorganiques, fibres	2 - 30	C, O, N	S	P1 (~15µm) : Al, Si, P2 (~10µm) : Ca, Si, Al P3 (~7µm) : Fe, Si, Al, P4, P5 et P6 (~2, 6 et 15 µm) : Si, Na, Fe, Al P7 (~30 µm) : Si, Al, Fe, K, Ca, P8 (~10µm) : K, Cl, Na, Ca, Fe, Si
	Poche plasma	particules organiques et inorganiques, fibres	1 - 90	C, O, N	S	P1 (~90µm) : Si, Al, Ca, K, Na, Mg, Cl, P2 (~15µm) : Al, Si, K, Na, Fe P3 (~3µm) : Cr, Fe, P4 (~1 µm) : Fe, Cr, Ni, Al P5 (~5 µm) : Al, Si, Fe, Na, P6 (~2µm) : Al P7 et P8 (~15 et 60µm) : Fe, P9 (~15µm) : Fe, Cr, Al, Si P10 (~15µm) : Si, Na, Al, P11 (~15µm) : Al, Si, Fe P12 (~15µm) : Si, Fe, Al, K, Ca, Mg, Cr, P13 (~30µm) : Si, Na, Ca, Fe
	Filtre en ligne	nombreuses particules organiques et inorganiques, fibres	1 - 30	C, O, N	S	P1 (~1µm) : Fe, Cr, P2 (~1µm) : Al P3 (~30µm) : Si, Mg, P4 (~15 µm) : Mg, Si, Al P5 (~15 µm) : Al, Si, P6 (~15µm) : Fe, Cr, Al, Si P7 (~1µm) : Al, Cr, Si, P8 (~1µm) : Al, Si
17D00668-00679 Conditions normales DMU lot 8716080	Flacon donneur	particules organiques et inorganiques, fibres	1 - 40	C, O, N	S	P1 (~1µm) : Fe, P2 (~1µm) : Fe, Si, P3 (~40µm) : C, O, N P4 (~1 µm) : Si, Fe, Ti, Al, P5 et P6 (~10 µm) : Al, Si, Fe P7 (~10µm) : Si
	Poche plasma	particules organiques et inorganiques, fibres	1 - 65	C, O, N	S	P1 (~20µm) : Fe, Cl, Si, P2 (~1,5µm) : Ca, Cl, Fe, K, P, Mg, Si, Al P3 (~1µm) : Fe, Cr, Si, P4 (~30 µm) : Si, Fe P5 (~4 µm) : Cr, Fe, P6 (~3µm) : Cr, Fe, Na P7 (~15µm) : Ca, Fe, Cl, K, Cr, Na, Si F1 (long ~65µm) : C, O P8 (~3µm) : Al, Ca, Fe, Cr, P9 (~25µm) : Si, Al, K, Na, Fe
	Filtre en ligne	nombreuses particules organiques et inorganiques, fibres	2 - 15	C, O, N	S	P1, P2 et P3 (~2 ; ~2 et 15µm) : Fe, Cr, Si P4 (~10µm) : Al, P5 (~6µm) : Fe, Cr, Ni, Si, Mg P6 (~15 µm) : Cl, Na, F, K, Ca, P7 (~15µm) : Fe, Cl, Al, Cr, Si, Mg
17D00671-00682 Conditions forcées DMU lot 8716080	Flacon donneur	particules organiques et inorganiques, fibres	1 - 45	C, O, N	S	P1 (~2µm) : Si, Na, Al, Fe, P2 (~1µm) : Fe, Cr, Na P3 (~15µm) : Si, Al, Fe, P4 (~4 µm) : Fe, Na P5 (~3 µm) : Al, Fe, P, Mg, P6 (~45µm) : Ca, Mg, Fe, Si P7 (~1µm) : Al, Cr, Fe, Si, Ca, P8 (~3µm) : Fe, Cl, Cr P9 (~15µm) : Si, Al, K, Fe, Na, P10 (~15µm) : Si, Al, Na, Fe P11 (~5µm) : Ca, P12 (~4 µm) : Cr, Fe, Na, Si P13 (~10 µm) : Si, Fe, Cr, P14 (~10µm) : Al, Fe, P, Mg, Cr, Cl P15 (~6µm) : Al, Fe, P, Mg, Cl, Cr, K, Na P16 (~10µm) : Fe, Cl, Ni, Cr
	Poche plasma	particules organiques et inorganiques, fibres	2 - 10	C, O, N	S	P1 (~10µm) : Ca, Si, Fe, Al, Mg, K, P2 (~5µm) : Si, Na, Al, Fe, K P3 (~10µm) : Ca, Fe, Na, Mg, Cr, Si P4 (~2 µm) : Si, Na, Fe, Al P5 (~3 µm) : Al, Fe, Cr
	Filtre en ligne	nombreuses particules organiques et inorganiques, fibres	1 – 500	C, O, N	S	P1, P2 et P3 (~7, ~15, ~15µm) : Al P4 (~2µm) : Si, Al, Na, K, P5 (~15 µm) : Ca, Na, Si P6 (~15 µm) : Ti, Si, Al, K, Mg, Na, Fe P7 (~1µm) : Fe, Si, Cl, Mn, P, Al, P8 (~1µm) : Fe, Si F1 (long ~500µm) : C, O, Ca, Si, Al

Note: Les particules ou fibres organiques n'ont pas été systématiquement reportées, elles sont composées de C, O, N ou C, O, N, S.

Commentaire

L'analyse qualitative des échantillons par MEB a montré la présence de particules multi élémentaires et fibres dans les échantillons analysés. Les particules et fibres retrouvées dans les échantillons sont de même nature que celles retrouvées dans l'anticoagulant et/ou les blancs réalisés avec de l'eau.

Par ailleurs, il n'a pas été possible de caractériser de façon formelle la présence ou l'absence de particules de joints dans les échantillons du fait de la présence des éléments constitutifs des joints également dans l'anticoagulant.

A noter que l'analyse des échantillons par MEB ne constitue pas une analyse exhaustive de l'ensemble des particules ou fibres potentiellement présentes dans l'échantillon et seule une analyse qualitative des éléments détectés peut être effectuée. Ces résultats sont à mettre en relation avec les résultats quantitatifs obtenus par ailleurs en contamination particulaire (particules non visibles).

1.5. Observation visuelle des bols

Lors du deuxième essai d'aphérèse, des particules noires ont été observées sur le bol du DMU. Afin de déterminer la provenance de ces particules, une observation des bols avant ouverture a été réalisée.

- Sur huit bols, aucune particule n'a été observée.
- Sur deux bols, des particules à l'extérieur du bol ont été observées. Ces particules s'éliminent facilement avec le doigt. Aucune de ces particules ne peut rentrer à l'intérieur du DMU qui est un système clos.
- Sur trois bols, des particules noires, qui semblent incrustées, sont observées. Afin de confirmer si ces particules sont à la surface interne du bol ou incrustée dans le bol, une analyse par MEB a été réalisée. Celle-ci a montré que la particule faisait partie intégrante du bol car elle n'a pas pu être analysée. En effet, si la particule avait été en surface, elle aurait pu être métallisée et donc analysée.

1.6. Conclusion

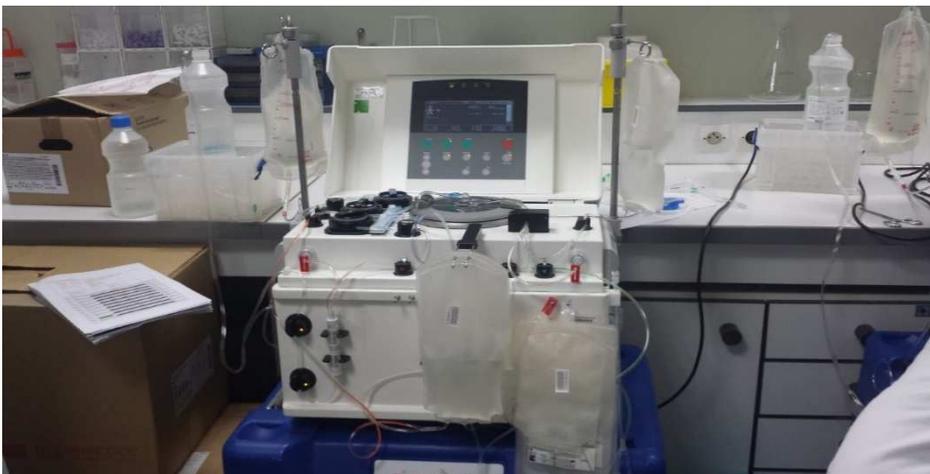
L'analyse qualitative des échantillons par MEB a montré la présence de particules multi élémentaires et de fibres dans les échantillons analysés. Cependant, les particules et les fibres retrouvées dans les échantillons analysés sont de même nature que celles retrouvées dans l'anticoagulant et/ou les blancs réalisés avec de l'eau ce qui permet d'exclure l'hypothèse d'un relargage par les constituants de l'appareil (exemple : joints).

D'autre part, les résultats obtenus en contamination particulaire (particules non visibles) montrent des taux faibles en particules et en deçà des spécifications de la Pharmacopée Européenne Chapitre 2.9.19.

De même, concernant les particules visibles, aucune particule noire qui aurait pu être issue du joint n'a été observée dans l'ensemble des échantillons testés.

2 / AUTOMATE MCS+

Automate MCS+ avec DMU référence 999FF-P-SL



2.1. Obtention des échantillons

Des simulations d'aphèreses ont été réalisées en remplaçant le donneur par un flacon d'eau Aqua B. Braun. De manière à réaliser le montage, la tubulure côté donneur contenant initialement l'aiguille de prélèvement a été coupée aux ciseaux, puis rincée abondamment à l'eau MilliQ pour éviter une contamination extérieure. La tubulure a ensuite été plongée directement dans le flacon donneur.

À noter que pour l'automate PCS2, cette procédure de rinçage abondante à l'eau MilliQ n'a pas été réalisée.

Les simulations d'aphérèse ont été réalisées en respectant au maximum les conditions réelles de fonctionnement :

DMU 998CF-FP-SL : 7 ou 8 cycles de 500 mL d'eau Aqua B. Braun (en remplacement du sang total), avec pour chaque cycle un recueil d'environ 70 mL d'eau dans la poche plasma et 40 mL d'eau dans la poche plaquette, soit pour une aphérèse complète de 7 cycles un volume nécessaire de 1 L d'eau Aqua B. Braun. A noter que 400 mL d'ACDA et 40 ml de solution Intersol sont utilisés au cours de l'aphérèse. L'ACDA se retrouve au final dans le flacon donneur et les poches plasma et plaquettes et l'Intersol se retrouve seulement dans la poche plaquette.

DMU 999FF-P-SL : 9 cycles de 450 mL d'eau Aqua B. Braun (en remplacement du sang total), avec pour chaque cycle un recueil d'environ 70 mL d'eau dans la poche plasma et 60 mL d'eau dans la poche plaquette, soit pour une aphérèse complète de 9 cycles un volume nécessaire de 1,2 L d'eau Aqua B. Braun. A noter que 500 mL d'ACDA sont utilisés au cours de l'aphérèse qui se retrouvent au final dans le flacon donneur et les poches plasma et plaquette.

A noter que des simulations d'aphérèse ont été réalisées en conditions « forcées » seulement pour celles réalisées avec le DMU 999FF-P-SL.

2.2. Comptage particulaire non visible

Une première partie a consisté aux contrôles des conditions opératoires et du matériel avant passage de l'automate MCS+.

► Contrôle du matériel

Dénomination	Référence	Lot	Condition	Contenance estimée (mL)	≥ 1 µm part./mL	≥ 5 µm part./mL	≥ 10 µm part./mL	≥ 25 µm part./mL	Commentaires
			Spécifications Ph. Eur. 2.9.19. Méthode 1		/	/	≤ 25 part./mL	≤ 3 part./mL	
Eau purifiée pour irrigation	B. Braun 75/1260401 6/0410	164478001	Dans bouteille	1000	31	2	0	0	Eau utilisée pour les aphèreses
Intersol	Fenwal CDB8110M	15K18A1	-	500	29	1	0	0	Intersol utilisé pour les aphèreses sur MCS+
Anticoagulant ACDA	TS14008	40KF17KD00	-	1000	215	16	0	0	Anticoagulant utilisé pour les aphèreses
Contrôle bouteille rinçage 1	B. Braun 75/1260401 6/0410	164478001	Dans bouteille	-	3	0	0	0	Eau où les tubulures ont été rincées afin de s'assurer que l'entrée donneur ne relarguait pas de particules
Contrôle bouteille rinçage 2	B. Braun 75/1260401 6/0410	164478001	Dans bouteille	-	3	0	0	0	

L'anticoagulant ACDA et l'Intersol nécessaires à la réalisation de l'aphérèse comportent peu de particules non visibles et sont donc utilisables pour nos contrôles. De plus, l'eau de rinçage dans laquelle l'entrée

donneur du DMU a été rincée afin de s'assurer qu'il n'y avait pas un relargage de particules comporte très peu de particules non visibles.

- **Contrôles préliminaires des différentes poches composant les deux DMU** afin d'estimer le niveau de contamination particulaire avant les simulations d'aphérèse (les résultats sont résumés dans le tableau ci-dessous) :

Dénomination	Référence	Lot	Condition	Contenance estimée (mL)	≥ 1 µm part./mL	≥ 5 µm part./mL	≥ 10 µm part./mL	≥ 25 µm part./mL
			Spécifications Ph. Eur. 2.9.19. Méthode 1		/	/	≤ 25 part./mL	≤ 3 part./mL
Poche intermédiaire plaquette	Haemonetics 999FF-P-SL	8216023	-	575	1525	131	17	0
Poche intermédiaire plaquette	Haemonetics 999FF-P-SL	8216023	-	425	1664	148	23	0
Poche primaire plaquette	Haemonetics 999FF-P-SL	8216023	-	316	1460	122	17	0
Poche primaire plaquette	Haemonetics 999FF-P-SL	8216023	-	184	1386	130	18	0
Poche finale plaquette	Haemonetics 999FF-P-SL	8216023	Sans filtration	526	2811	520	50	0
Poche finale plaquettes	Haemonetics 999FF-P-SL	8216023	Sans filtration	493	1237	186	14	0
Poche finale plaquette	Haemonetics 999FF-P-SL	8216023	Après filtration	228	733	101	7	0
Poche primaire plasma	Haemonetics 999FF-P-SL	8216023	-	771	2521	227	32	0
Poche primaire plasma	Haemonetics 999FF-P-SL	8216023	-	660	1644	150	18	0
Poche finale plasma	Haemonetics 999FF-P-SL	8216023	Sans filtration	666	1834	156	22	0
Poche finale plasma	Haemonetics 999FF-P-SL	8216023	Sans filtration	638	2475	217	23	0
Poche finale plasma	Haemonetics 999FF-P-SL	8216023	Après filtration	600	360	25	2	0
Poche intermédiaire plaquette	Haemonetics 998CF-FP-SL	VV15095	-	216	968	80	10	0
Poche primaire plaquette	Haemonetics 998CF-FP-SL	VV15095	-	182	1460	103	10	0
Poche finale plaquette	Haemonetics 998CF-FP-SL	VV15095	Sans filtration	338	1598	237	16	0
Poche finale plaquettes	Haemonetics 998CF-FP-SL	VV15095	Après filtration	260	2163	322	27	0
Poche primaire plasma	Haemonetics 998CF-FP-SL	VV15095	-	579	1632	150	23	0
Poche finale plasma	Haemonetics 998CF-FP-SL	VV15095	Sans filtration	594	1047	75	10	0
Poche finale plasma	Haemonetics 998CF-FP-SL	VV15095	Après filtration	604	1684	120	17	0
Poche Intersol	Haemonetics 998CF-FP-SL	VV15095	Sans filtration	410	1316	122	11	0
Poche Intersol	Haemonetics 998CF-FP-SL	VV15095	Sans filtration	264	1113	89	11	0

Remarque : chaque poche contrôlée a été dissociée du DMU et contrôlée individuellement.

En préambule, on peut rappeler que le contrôle préliminaire des poches du DMU utilisées sur PCS2 avait montré peu de particules de l'ordre de 500 par mL pour particules $\geq 1 \mu\text{m}$, de 30 par mL pour particules $\geq 5 \mu\text{m}$, de 4 par mL pour particules $\geq 10 \mu\text{m}$ et 0 par mL pour particules $\geq 25 \mu\text{m}$.

Par comparaison, le contrôle des différentes poches constituant ces deux DMU a révélé la présence de particules non visibles dont les quantités sont supérieures à celles observées pour le DMU utilisé avec l'automate PCS2 et ceci pour toutes les tailles de particules. Néanmoins, les résultats restent conformes à la Ph. Eur. Chapitre 2.9.19. pour la majorité des poches.

Ces résultats de niveau « de base » de particules non visibles peuvent rendre difficile l'interprétation des résultats après simulation des aphérèses.

On note que certaines poches du DMU Haemonetics 999FF-P-SL ont été contrôlées deux fois et que le niveau des quantités des particules ainsi trouvées est comparable entre les deux essais.

De plus, certains éléments sont apparus non conformes à la Ph. Eur. Chapitre 2.9.19. :

- 998CF-FP-SL : poche finale plaquette après passage d'eau par le filtre,
- 999FF-P-SL : poche primaire plasma et poche finale plaquette sans passage d'eau par le filtre.

► **Résultats du contrôle de l'automate MCS+ :**

Etiquette EFS N° LIMS ANSM	Echantillons pour analyse	Référence	Lot	Condition	Contenance estimée (mL)	$\geq 1 \mu\text{m}$ part./mL	$\geq 5 \mu\text{m}$ part./mL	$\geq 10 \mu\text{m}$ part./mL	$\geq 25 \mu\text{m}$ part./mL
				Spécifications Ph. Eur. 2.9.19. Méthode 1		/	/	≤ 25 part./mL	≤ 3 part./mL
72 7 0018701 17-00769- 0787 Réalisé le 28/02/2017	Réservoir donneur	B. Braun 75/12604016/0410	164478001	Normale	1041	24	2	0	0
	Poche intermédiaire plaquette	Haemonetics 999FF-P-SL	8216023		53	801	46	3	0
	Poche primaire plaquette	Haemonetics 999FF-P-SL	8216023		141	5621	549	55	0
	Poche primaire plasma	Haemonetics 999FF-P-SL	8216023		275	763	42	2	0
72 7 0018704 17-00779- 00799 réalisé le 01/03/2017	Réservoir donneur	B. Braun 75/12604016/0410	164478001	Forcée	362	283	23	2	0
	Poche intermédiaire plaquette	Haemonetics 999FF-P-SL	8216023		311	1156	120	12	0
	Poche primaire plaquette	Haemonetics 999FF-P-SL	8216023		183	1305	117	9	0
	Poche primaire plasma	Haemonetics 999FF-P-SL	8216023		681	755	93	19	0
72 7 0018703 17-00771- 00789 Réalisé le 10/03/2017	Réservoir donneur	B. Braun 75/12604016/0410	164478001	Normale	538	51	5	2	0
	Poche primaire plaquette	Haemonetics 999FF-P-SL	8216023		279	1355	66	9	0
	Poche primaire plasma	Haemonetics 999FF-P-SL	8216023		672	373	20	2	0
72 7 0018706 17-00781- 00801 Réalisé le 10/03/2017	Réservoir donneur	B. Braun 75/12604016/0410	164478001	Forcée	559	148	10	2	0
	Poche primaire plaquette	Haemonetics 999FF-P-SL	8216023		176	1406	72	14	0
	Poche primaire plasma	Haemonetics 999FF-P-SL	8216023		683	693	82	22	0

72 7 0018765 17-00766-00784 Réalisé le 28/02/2017 incident de vidage de la poche intermédiaire lors de la procédure d'où réalisation d'un 2e essai	Réservoir donneur	B. Braun 75/12604016/0410	164478001	Normale	430	120	15	4	0
	Poche intermédiaire plaquette	Haemonetics 998CF-FP-SL	VV15095		131	6448	596	56	1
	Poche primaire plaquette	Haemonetics 998CF-FP-SL	VV15095		275	2410	228	26	0
	Poche primaire plasma	Haemonetics 998CF-FP-SL	VV15095		552	886	88	9	0
72 7 0018768 17-00782-00802 2e essai réalisé le 01/03/2017	Réservoir donneur	B. Braun 75/12604016/0410	164478001	Normale	523	179	13	2	0
	Poche Intersol	Haemonetics 998CF-FP-SL	VV15095		457	1363	116	8	0
	Poche primaire plaquette	Haemonetics 998CF-FP-SL	VV15095		325	1654	150	13	0
	Poche primaire plasma	Haemonetics 998CF-FP-SL	VV15095		498	2701	267	28	0
72 7 0018767 17-00768-00786 Réalisé le 10/03/2017	Réservoir donneur	B. Braun 75/12604016/0410	164478001	Normale	549	61	4	2	0
	Poche primaire plaquette	Haemonetics 998CF-FP-SL	VV15095		320	1298	30	2	0
	Poche primaire plasma	Haemonetics 998CF-FP-SL	VV15095		485	2439	89	5	0

A noter que l'essai 17-00766-00784 avec incident de vidage de la poche a été reconduit une deuxième fois (cf. 17-00782-00802). Les résultats de ce premier essai déclaré invalide n'ont pas été pris en compte. Lors du deuxième essai, la poche Intersol a été analysée de manière complémentaire.

Commentaire

- Aucune particule $\geq 25 \mu\text{m}$ n'est retrouvée quel que soit le récipient analysé et ceci pour toutes les simulations d'aphérèse réalisées.
- Il apparaît que le nombre de particules non visibles est moins élevé pour le réservoir donneur que pour les autres poches pour toutes les expériences avec les deux DMU.
- Le nombre de particules non visibles retrouvé apparaît cohérent entre les différentes expériences. De plus, les résultats obtenus pour une même condition mais sur deux procédures d'aphérèse indépendantes sont similaires.
- Deux résultats concernant la taille de particules $\geq 10 \mu\text{m}$ montrent un dépassement des critères de la Pharmacopée européenne (en gras dans le tableau de résultats).
- Les résultats obtenus apparaissent difficilement interprétables dans la mesure où les multiples compartiments des deux DMU contrôlés comportent initialement des particules non visibles.

2.3. Recherche des particules visibles

La recherche des particules visibles a été effectuée sur les poches issues des 3 aphérèses consignées dans le tableau ci-dessus « résultats du contrôle de l'automate MCS+ ».

Etiquette EFS N° LIMS ANSM	Echantillons pour analyse	Référence	Lot	Condition aphérese
72 7 0018767 17-00768-00786	Réservoir donneur	B. Braun 75/12604016/0410	164478001	Normale
	Poche primaire plaquette	Haemonetics 998CF-FP-SL	VV15095	
	Poche primaire plasma	Haemonetics 998CF-FP-SL	VV15095	
	Poche Intersol filtrée			
72 7 0018703 17-00771-00789	Réservoir donneur	B. Braun 75/12604016/0410	164478001	Normale
	Poche primaire plaquette	Haemonetics 999FF-P-SL	8216023	
	Poche primaire plasma	Haemonetics 999FF-P-SL	8216023	
72 7 0018706 17-00781-00801	Réservoir donneur	B. Braun 75/12604016/0410	164478001	Forcée
	Poche primaire plaquette	Haemonetics 999FF-P-SL	8216023	
	Poche primaire plasma	Haemonetics 999FF-P-SL	8216023	

Commentaire

Au niveau des résultats, des particules visibles de types plastiques (contamination possible lors de la coupe de tubulure) et fibres ont été observées dans certains échantillons.

Néanmoins, aucune particule noire n'a été observée dans l'ensemble des échantillons testés.

2.4. Résultats de l'analyse MEB

Echantillon		Observation	Taille (μm)	Éléments présents sur la membrane		Éléments présents dans les particules (P) et fibres (F) analysées
				majoritaires	minoritaires	
-	Intersol 13 mm	Peu de particules organiques et inorganiques, très peu de fibres	6 - 500	C, O, N	S	P1 (~137 μm) : Ca, Na, Si, Cl, P2 (~20 μm) : Si, Na, Mg, Cl, P P3 (~10 μm) : Si, Mg, Na, Cl, F1 (~500 μm) : Na, Cl, P, Si P4 (~10 μm) : Ca, Na, Si, Cl, Al, Fe, P, Mg P5 et P6 (~6 et 15 μm) : Si, Na, Al, K P7 (~6 μm) : Ca, Si, Al, Na, Fe, Mg, Cl, P, K, P8 (~9 μm) : Si, Mg, Fe, Na, P9 (~80 μm) : Cl, Na, P, Si, Al P10 (~50 μm) : Si, P11 (~50 μm) : Ca, Si, Al, K, Na, Mg, Cl,
	Intersol filtré 47 mm	Très peu de particules organiques et inorganiques, très peu de fibres	4 - 70	C, O, N	S	P1 (~6 μm) : Si, Na, Cl, Al, P, K P2 (~4 μm) : Si, Na, Cl, P, Al P3 (~70 μm) : Al, Cl, Mg, Na, Si P4 (~70 μm) : Al, Cl, Mg, Na
	ACDA pur 13 mm	Nombreuses particules organiques et peu de inorganiques, fibres	30 - 50	C, O, N	S	P1 (~30 μm) : Na P2 (~50 μm) : Si, Mg, Na P3 (~70 μm) : Fe, Na, Ni, Si

17D00767-00785 <i>Conditions normales</i> DMU 998CF-FP-SL lot VV15095	Flacon donneur	Très peu de particules organiques et inorganiques, très peu de fibres	1 - 20	C, O, N		P1 (~20µm) : Si, Al, Fe, Na, P2 (~10µm) : Cr, Na, Fe, Si P3 (~1µm) : Al, Cr, Fe, Na, Si P4 (~1 µm) : Fe, Cr, Ni, Na, Si P5 (~20 µm) : Al, Si, Fe, K P6 (~1.5µm) : Al, Na, Fe, Cr
	Poche plasma	Pas de particule organique et très peu d'inorganiques, très peu de fibres	1 - 15	C, O, N		P1 (~50µm) : Al, Fe, Na, Si P2 (~2µm) : Na, Fe P3 (~15 µm) : Fe, Cr, Ni, Mo, Mn, Si, Na
	Poche plaquette	Pas de particule organique et très peu d'inorganiques, peu de fibres	1 - 80	C, O, N	S	P1 (~25µm) : Fe, Si, Ca, Ni, Cr, Al F1 (long ~20µm) : C, O, P2 (~30µm) : Na, Fe, Cl, Si P3 (~4µm) : Na, Cr, Fe, Cl, P, P4 (~1µm) : Na, Fe, Cl, P, Si P5 (~20µm) : Si, Na, Fe, Al, Cl, P, P6 (~2µm) : Na, Cl, Fe, Cr, P, Si, F2 (long ~80µm) : C, O, P7 (~5µm) : Na, Cr, Cl, Fe, P P8 (~2.5µm) : Na, Fe, Cl, P, P9 (~25µm) : Si, Ca, Fe, Na, Br
	Filtre en ligne	Nombreuses particules organiques et inorganiques, fibres		C, O, N	S	P1 (~15µm) : Si, Mg, Fe, P2 (~30µm) : Na, Si P3 (~10µm) : Si, Mg, Fe, Ti, Ca, Al P4 (~15µm) : Ti, Si, Na, Mg, P5 (~5µm) : Fe, Cr, Si, Na P6 (~4µm) : Fe, Si, Al, Mg, K, Na P7 (~6µm) : Na, Si
17D00770-00788 <i>Conditions normales</i> DMU 999FF-P-SL lot 8216023	Flacon donneur	Particules organiques et inorganiques, fibres (358µm non analysée)	3 - 100	C, O, N	S	P1 (~3µm) : Na, Fe, Si, P2 (~10µm) : Na, Si, Fe, Ca P3 (~30µm) : Si, Fe, P4 (~65µm) : Na P5 (~11µm) : Fe, Na, Cr, Si, Al, Ca, P6 (~12µm) : Si, Fe, Na, Al, P7 (~30 µm) : Si, Al, K, Fe, Mg, Na P8 (~70µm) : Na, Fe, P9 (~57µm) : Na, Fe, Si F1 (long~100µm) : C, O, Fe, P10 (~12µm) : Ti, Na P11 (~36µm) : Cl, Fe, Na, Si P12 (~16µm) : Al, Si, Pt, Fe, Ca, Na P13 (~13µm) : Ca, Mg, Na, Fe, Si
	Poche plasma	Particules organiques et inorganiques, fibres (1000µm non analysée)	2 - 170	C, O, N	S,	P1 (~18µm) : Mg, Si, Al, Fe, Cr, F1 (~170µm) : C, O, N P2 (~2 µm) posée sur fibre F1: Si, Sn, Ba, Fe, Al, Mg P3 (~2 µm) : Fe, Na, Cr, Si, Al, Cl, Ca P4 (~3 µm) : Si, Na, Ca, P5 (~2µm) : Na
	Poche plaquette	Pas de particules organiques et très peu d'inorganiques, peu de fibres	3 - 12	C, O, N	S	P1 (~3µm) : Na, Cl, Mg, Fe, Ca, K, P2 (~12µm) : Na, Fe, Si P3 (~4µm) : Fe, K, Si, Na, Ca, Al
	Filtre en ligne	Nombreuses particules organiques et inorganiques, fibres	10 - 50	C, O, N	S	P1 (~35µm) : Si, Na, Ti, Mg P2 (~10µm) : Si, Mg, Fe P3 (~10µm) : Pb, Si, Fe, Ti, Al, Ca, Na, K P4 (~10µm) : Si, Fe, Al, Na, K, Mg, Ti, Ca P5 (~50µm) : Fe, Cr, Si, Al

17D00780-00800 <i>Conditions forcées</i> DMU 999FF-P-SL lot 8216023	Flacon donneur	Très peu de particules organiques et peu d'inorganiques, fibres	4 - 50	C, O, N	S	P1 (~4µm) : Fe, Cr, Si, Na, Cl P2 (~5µm) : Si, Na, Al, Fe, K P3 (~5µm) : Na, Fe P4 (~10µm) : Fe, Cr, Si, Na, V P5 (~10µm) : Si, Al, Na, Fe, K, Mg P6 (~50 µm) : C, O P7 et P8 (~4 et 6µm) : Cr, Na, Fe, Si
	Poche plasma	Particules organiques et inorganiques, fibres	2 - 50	C, O, N	S	P1 (~2µm) : Al, Cr, Fe, Si, Na P2 (~2µm) : Al, Cr, Fe, Na P3 (~3 µm) : Cr, Fe, Na P4 (~3 µm) : Al, Cr, Fe, Na, Si P5 (~10µm) : Al, Si, Fe, Na P6 (~50µm) : Si, Fe, Ca, K P7 (~3µm) : Al, Fe, Cr, Si, Na
	Poche plaquette	Nombreuses particules organiques et inorganiques, fibres	1 - 44	C, O, N	S	P1 (~44µm) : Na, Fe, Si, Ti, P2 (~2µm) : Si, Na, Fe, Ti P3 (~0.1µm) : Fe, Al, Si, Na, Cr, Ti, Mg P4 (~11 µm) : Si, Mg, Fe, Na P5 (~41 µm) : Na, Fe, Si, Al, Mg P6 (~30µm) : Si, Al, Ca, Na, Fe, K P7 (~0.5µm) : Fe, Na, Si, P8 (~4µm) : Si, Na, Fe, K P9 (~10µm) : Si, Mg, Fe, Na, P10 (~6µm) : Si, Mg, Fe, Na, Ti P11 (~20µm) : Si, Na, Fe, Mg, Ti P12 (~25 µm) : Na, Si, Ti, Fe, Mg P13 (~15 µm) : Si, Mg, Fe, Na, P14 (~1µm) : Ti, Fe, F, Na, Si
	Filtre en ligne	Nombreuses particules organiques et inorganiques, fibres (180µm non analysée)	6 - 40	C, O, N	S	P1 (~35µm) : Na, Ti, Si, Cl P2 (~40µm) : Fe, Cr P3 (~6µm) : Ti, Cl

Note : les particules ou fibres organiques n'ont pas été systématiquement reportées, elles sont composées de C, O, N ou C, O, N, S.

Commentaire

L'analyse qualitative des échantillons par MEB a montré la présence de particules multi élémentaires et fibres dans les échantillons analysés. Les particules et fibres retrouvées dans ces échantillons sont de même nature que celles retrouvées dans l'anticoagulant et/ou la solution additive Intersol et/ou les blancs réalisés avec de l'eau.

Par ailleurs, il n'a pas été possible de caractériser de façon formelle la présence ou l'absence de particules de joints dans les échantillons du fait de la présence des éléments constitutifs des joints également dans l'anticoagulant.

A noter que l'analyse des échantillons par MEB ne constitue pas une analyse exhaustive de l'ensemble des particules ou fibres potentiellement présentes dans l'échantillon et seule une analyse qualitative des éléments détectés peut être effectuée. Ces résultats sont à mettre en relation avec les résultats quantitatifs obtenus par ailleurs en contamination particulaire (particules non visibles).

2.5. Observation visuelle des bols

Tous les bols des DMU utilisés pour les aphèreses ont été soigneusement observés avant aphèreses. Il n'a pas été observé de particules noires.

2.6. Conclusion

L'analyse qualitative des échantillons par MEB a montré la présence de particules multi élémentaires et de fibres dans les échantillons analysés. Cependant, les particules et les fibres retrouvées dans les échantillons analysés sont de même nature que celles retrouvées dans l'anticoagulant et/ou la solution additive Intersol et/ou les blancs réalisés avec de l'eau ce qui permet d'exclure l'hypothèse d'un relargage par les constituants de l'appareil (exemple : joints).

D'autre part, les résultats obtenus en contamination particulaire (particules non visibles) montrent des taux un peu plus élevés que ceux obtenus avec l'automate PCS2. Il est à noter que deux résultats concernant les particules de tailles $\geq 10 \mu\text{m}$ montrent un dépassement des critères de la Pharmacopée européenne. Néanmoins, les taux pour ces particules dans le DMU sans passage en aphérèse sont plus élevés que dans la précédente expérience.

Concernant les particules visibles, aucune particule noire qui aurait pu être issue du joint n'a été observée dans l'ensemble des échantillons testés.

3 / ESSAIS COMPLEMENTAIRES

Au cours du déroulement du plan d'analyses et compte tenu de la complexité de l'interprétation des résultats obtenus, la réalisation d'essais complémentaires a été planifiée de façon conjointe entre l'EFS et l'ANSM.

3.1. Evaluation de la contamination particulaire d'échantillons d'eau MilliQ introduite manuellement dans des bols issus des aphérèses de PCS2.

Ce premier essai complémentaire avait pour objectif de vérifier la détection de particules suite à une dégradation artificielle du joint du bol.

3.1.1. Obtention des échantillons : les bols de centrifugation ont été prélevés à partir des DMU utilisés dans les aphérèses suivantes

N° EFS	N° LIMS ANSM	Description simulation aphérèse	Lot DMU
72 7 0018753 5	17-00662-00673	Condition normale	8816002
72 7 0018755 1	17-00664-00675	Condition forcée	8816002

Introduction de 30 mL (3 x 10mL) d'eau exempte de particules (eau MilliQ filtrée à travers une membrane de porosité de $0,22 \mu\text{m}$) dans la partie supérieure du bol (retourné) contenant le joint. Laisser en contact en exerçant des pressions, rotations et mouvements transversaux par série de 10 pendant 2mn. Récupération de la solution dans de la verrerie pour recherche de particules visibles et non visibles. La verrerie est nettoyée et contrôlée selon la Ph. Eur. Chapitre 2.9.19. afin d'être exempte de particules.

Bol retourné



3.1.2. Résultats particules non visibles

Etiquette EFS N° LIMS ANSM	Dénomination	Référence	Lot	Condition	Contenance estimée (mL)	≥ 1 µm part./mL	≥ 5 µm part./mL	≥ 10 µm part./mL	≥ 25 µm part./mL
				Spécifications Ph. Eur. 2.9.19. méthode 1		/	/	≤ 25 part./mL	≤ 3 part./mL
72 7 0018753 5 17-00662-00673 réalisé le 04/04/2017	Bol de centrifugation	Haemonetics 782HS-P-SL	8816002	Dissolution joint Normale	30	33 890	2 580	200	10
72 7 0018755 1 17-00664-00675 réalisé le 04/04/2017	Bol de centrifugation	Haemonetics 782HS-P-SL	8816002	Dissolution joint Forcée	30	138 100	5 800	700	53

Comme attendu, les résultats obtenus lors de ce contrôle ne sont pas conformes à la Ph. Eur. Un grand nombre de particules non visibles est obtenu pour les deux bols issus des deux conditions testées (normale et forcée). Il est à noter que ce nombre de particules non visibles est supérieur avec la condition forcée.

3.1.3. Résultats particules visibles

Des fibres, des particules et des filaments blancs ou noirs sont observés en grand nombre dans les deux conditions testées (normale et forcée).

3.1.4. Synthèse

Ces essais démontrent qu'en générant artificiellement une dégradation du joint noir, de forts taux de particules non visibles sont mis en évidence ainsi que de nombreuses particules visibles (dont noires). Cela confirme notre capacité à identifier ou détecter des particules visibles et non visibles.

3.2. Recherche et caractérisation de particules par MEB dans les poches des DMU 782HS-P-SL automate PCS2, 998CF-FP-SL et 999FF-P-SL automate MCS + Haemonetics avant aphérèse

Ce deuxième essai complémentaire a pour objectif de réaliser un contrôle préliminaire en MEB sur les poches avant aphérèse et de compléter les « blancs » en effectuant une analyse MEB sur les membranes nitrocelluloses utilisées pour les analyses en MEB.

De plus, 2 morceaux de joint noir ont été déposés directement sur le dispositif MEB contrairement à la première préparation effectuée sous forme de poudre et qui avait été étudié en MEB lors des aphérèses de l'automate PCS2 (voir 3.1).

3.2.1. Obtention des échantillons issus des DMU avant aphérèse pour l'analyse MEB

Les poches primaires plasma et celles primaires plaquettes ont été remplies avec environ 450mL d'eau MilliQ. Après 1 heure de mise en contact, les solutions ont été filtrées sur filtres nitrocellulose de diamètre 47mm.

3.2.2. Résultats

► Résultats sur le joint morceau et les membranes utilisées comme support MEB

Echantillon	Observation	Éléments retrouvés aux différentes zones d'analyse
Joint noir (morceau)	Aspect hétérogène	C, O, N, S, Zn, K, Si, Al, Na, Mg, Ti, Fe, Cr, Zr, Ca, P, Cl, Ba, Pb, Mn, Ni
Membrane Diamètre 13 et 47 mm	Présence de particules et fibres d'aspect « lisse » et « fibreux »	C, O, N

Commentaire

Les analyses de joint noir, en poudre (cf. 1.3) et en morceau (cf. ci-dessus), montrent qu'outre les nombreux éléments retrouvés, on identifie un élément commun : le Zinc qui peut être considéré comme un traceur du joint noir. Cet élément ne se retrouve dans aucune analyse MEB effectuée après aphérèse (PCS2 et MCS+).

De même, le Zirconium, élément plus spécifique du joint mais présent en très faible quantité, n'a pas été retrouvé lors des analyses après aphérèse.

► Résultats sur les DMU avant aphérèse

Echantillon		Observation	Taille (µm)	Eléments présents sur la membrane		Eléments présents dans les particules (P) et fibres (F) analysées
				majoritaires	minoritaires	
998CF-FP-SL 8816058	Poche primaire plasma	Peu de particules organiques et inorganiques, fibres	1.5 - 50	C, O, N	S	P1 (~13µm) : Si, Mg, Fe, Al P2 (~1.5µm) : Si, Mg P3 (~37µm) : Si P4 (~32µm) : Cr, Fe, Si P5 (~50µm) : Cr, Si, Mg, Na, Fe, Cr, Ti, Si, Mg P6 (~25µm) : Cr, Si, Mg, Na P7 (~23µm) : Ti, Si P8 (~4µm) : Ti, Si, Fe, Mg, Al, Cl, P P9 (~10µm) : Cr, Al, Si P10 (~6µm) : Si, Mg, Ti, Fe P11 (~10µm) : Si P12 (~25µm) : Si, Ca, K, Al P13 (~3µm) : Si, Al, K, Fe, Mg P14 (~7µm) : Si, Al, Fe, Ca, K, Ti, Mg, Cl, Na P15 (~7µm) : Si, Mg, Fe
	Poche primaire plaquette	Peu de particules organiques et inorganiques, peu de fibres	4 - 45	C, O, N	S	P1 (~22µm) : Cr, Fe, Si, Mg P2 (~45µm) : Mg, Si, Al, Fe P3 (~4µm) : Cr, Si, Al P4 (~20µm) : Al, Si, Cl P5 (~8µm) : Si, Mg, Fe, Ti P6 (~7µm) : Si, Mg, Fe, Ti, Al P7 (~22µm) : C, O P8 (~4µm) : Si, Mg, Ti, Fe P9 (~40µm) : C, O, N, Cl, S P10 (~15µm) : Fe, Cr

999FF-P-SL 8416024	Poche primaire plasma	Pas de particule organique et peu d'inorganiques, fibres	3 - 100	C, O, N	S	F1 (~100µm) : C, O P1 (~5µm) : Si, Al P2 (~10µm) : Cr, Si P3 (~3µm) : Cr, Si P4 (~4µm) : Ca, Si, Mg P5 (~20µm) : P, Zn, Ca, Si, Fe, Al, Na, K, Mg, Cl P6 (~70µm) : Si, Al, Cl, Na P7 (~25µm) : Si, Ca, Mg, Al P8 (~22µm) : Si
	Poche primaire plaquette	Pas de particule organique et peu d'inorganiques, fibres	5 - 50	C, O, N	S	P1 (~5µm) : Ca, Mg, Fe P2 (~30µm) : Cr, Si P3 (~50µm) : Si, Al P4 (~7µm) : Cr, Si P5 (~20µm) : Ti, Si, Fe, Mg, Al, Cl P6 (~10µm) : Si, K, Al P7 (~10µm) : Cr P8 (~8µm) : Si, Mg, Fe P9 (~15µm) : Cr, Si P10 (~7µm) : Cr, Si
782HS-P-SL 8816002	Poche plasma	Pas de particule organique et peu d'inorganiques, fibres	2 - 200	C, O, N	S	F1 (long ~60µm) : C, O, N F1 (long ~200µm) : C, O, Si, Al, N P1 (~4µm) : Mg, Si, Al, Fe, Cr P2 (~16µm) : Si P3 (~2µm) : Si, Al, Ca, Fe, K, Na, Mg P4 (~7µm) : C, N, O, S P5 (~18µm) : Cr, Si, Na

Commentaire

L'analyse qualitative des poches avant aphérèse par MEB a montré la présence de particules multi élémentaires et fibres dans les échantillons analysés. Les particules et fibres retrouvées dans ces échantillons sont de même nature que celles retrouvées dans l'anticoagulant et/ou la solution additive intersol et/ou les blancs réalisés avec de l'eau et/ou les échantillons issus des aphérèses et/ou membrane nitrocellulose.

3.3. Vérification de l'efficacité des filtres à déleucocyter intégrés au DMU 782HS-P-SL et dans le DMU 999FF-P-SL.

Afin de compléter cette étude, l'EFS a souhaité que l'ANSM vérifie l'efficacité des filtres à déleucocyter intégrés au DMU 782HS-P-SL et au DMU 999FF-P-SL.

Les contrôles effectués ont été :

- recherche des particules non visibles avant et après filtration,
- recherche des particules visibles dans le filtrat.

3.3.1. Obtention des échantillons

La poche reliée au filtre à déleucocyter est dissociée de celui-ci, puis remplie au 2/3 par de l'eau exempte de particules (eau MilliQ). Environ 50 mL d'eau dans cette poche sont transférés en évitant la formation de bulles d'air dans de la verrerie (bêcher de 200 mL).

La poche est ensuite reliée au filtre à déleucocyter puis la totalité du filtrat est récupérée en 2 ou 3 fractions en évitant la formation de bulles d'air dans de la verrerie (bêcher de 200 mL).

La verrerie est nettoyée et contrôlée selon la Ph.Eur. 2.9.19. afin d'être exempte de particules.

Ont été contrôlés :

- pour le DMU 782HS-P-SL : 3 filtres à déleucocyter BSV 8000XA,
- pour le DMU 999FF-P-SL : 2 filtres à déleucocyter les plaquettes et 2 filtres à déleucocyter le plasma.

3.3.2. Résultats

N° LIMS ANSM	Dénomination	Référence	Lot	Contenance estimée (mL)	≥ 1 µm part./mL	≥ 5 µm part./mL	≥ 10 µm part./mL	≥ 25 µm part./mL
		Spécifications Ph. Eur. 2.9.19. Méthode 1			/	/	≤ 25 part./mL	≤ 3 part./mL
17-00933-00977 poche 1 13/03/2017	Poche avant filtration	BSV 8000XA	2053 15D18	790	344	28	3	0
	Filtrat début			245	80	2	1	0
	Filtrat milieu			245	79	4	1	0
	Filtrat fin			245	52	1	0	0
17-00933-00977 poche 2 13/03/2017	Poche avant filtration	BSV 8000XA	2053 15D18	790	988	80	12	0
	Filtrat début			245	68	5	1	0
	Filtrat milieu			245	76	4	1	0
	Filtrat fin			245	1	0	0	0
17-00933-00977 poche 3 13/03/2017	Poche avant filtration	BSV 8000XA	2053 15D18	790	777	66	12	0
	Filtrat début			245	41	5	2	0
	Filtrat milieu			245	2	0	0	0
	Filtrat fin			245	1	0	0	0
17-00968-01014 DMU 1 Filtre plaquette 22/03/2017	Poche plaquette avant filtration	Haemonetics 999FF-P-SL	8216023	270	701	49	6	0
	Filtrat début			110	3	1	1	0
	Filtrat fin			110	3	0	0	0
17-00968-01014 DMU 2 Filtre plaquette 24/03/2017	Poche plaquette avant filtration	Haemonetics 999FF-P-SL	8216023	210	1 958	174	22	0
	Filtrat début			80	20	2	1	0
	Filtrat fin			80	19	1	0	0

17-00968-01014 DMU 1 Filtre plasma 22/03/2017	Poche plasma avant filtration	Haemonetics 999FF-P-SL	8216023	512	877	54	8	0
	Filtrat début			155	20	4	2	0
	Filtrat milieu			155	2	1	0	0
	Filtrat fin			155	3	0	0	0
17-00968-01014 DMU 2 Filtre plasma 24/03/2017	Poche plasma avant filtration	Haemonetics 999FF-P-SL	8216023	534	1 667	149	19	0
	Filtrat début			160	28	3	1	0
	Filtrat milieu			160	5	1	0	0
	Filtrat fin			160	18	1	0	0

Commentaire

Les résultats des essais de la recherche des particules non visibles ont montré que les poches contrôlées avant filtration comportent des particules non visibles dans des teneurs conformes à la Ph. Eur. Les filtres à déleucocyter permettent de diminuer notablement ce nombre de particules tout au long de la filtration. Les résultats de la recherche des particules visibles ont montré que des filaments blancs et/ou particules sont observés dans l'ensemble des filtrats obtenus.

3.4. Synthèse finale

3.4.1. Eléments issus des simulations d'aphérèse pour l'automate PCS2

- Recherche des particules non visibles : taux faible en particules et conforme aux spécifications Ph. Eur.
- Recherche des particules visibles : aucune particule noire
- Analyse MEB : présence de particules multi élémentaires et de fibres mais difficulté d'interprétation due au fait que l'on retrouve ces particules et fibres dans l'anticoagulant et/ou les blancs réalisés avec de l'eau.

3.4.2. Eléments issus des simulations d'aphérèse pour l'automate MCS+

- Recherche des particules non visibles : 2 résultats non conformes aux spécifications de la Ph. Eur., mais difficulté d'interprétation du fait d'un nombre assez élevé de particules dans le DMU avant aphérèse.
- Recherche de particules visibles : aucune particule noire
- Analyse MEB : présence de particules multi élémentaires et de fibres mais difficulté d'interprétation due au fait que l'on retrouve ces particules et fibres dans l'anticoagulant et/ou la solution additive Intersol et/ou les blancs réalisés avec de l'eau.

3.4.3. Eléments issus de l'essai complémentaire : MEB dans les poches des DMU 782HS-P-SL automate PCS2, 998CF-FP-SL et 999FF-P-SL automate MCS + Haemonetics avant aphérèse

Pour les poches primaires plasma et poches primaires plaquette des DMU 998CF-FP-SL et 999FF-P-SL et pour la poche plasma du DMU 782HS-P-SL, l'analyse MEB avant aphérèse montre la présence de particules multi élémentaires et fibres. Les particules et fibres sont de même nature que celles retrouvées

dans l'anticoagulant et/ou la solution additive intersol et/ou les blancs réalisés avec de l'eau et/ou les échantillons issus des aphérèses et/ou membrane nitrocellulose.

En ce qui concerne les analyses du joint noir (poudre et morceaux), outre les nombreux éléments retrouvés, on note un élément commun : le Zinc. Or, cet élément ne se retrouve dans aucune analyse MEB effectuée après aphérèse (PCS2 et MCS+).

3.4.4. Eléments issus de l'essai complémentaire sur les filtres à déleucocyter

Les filtres à déleucocyter intégrés au DMU(s) 782HS-P-SL, 998CF-FP-SL et 999FF-P-SL retiennent des particules.

C/ AUTOMATES AMICUS, AUTOPHERESIS C, TRIMA ACCEL

Préambule

Les simulations d'aphérèse ont été réalisées pour des raisons pratiques (notamment impossibilité de déplacer les automates) au sein des locaux de l'EFS.

Pour les trois automates, compte tenu des résultats précédents, il a été décidé de ne pas réaliser d'analyse MEB.

La contamination particulaire, recherche de particules non visibles et visibles a été réalisée selon les mêmes méthodes décrites dans le chapitre « Méthodes et référentiels » et les mêmes référentiels ont été utilisés.

1 / AUTOMATE AMICUS

L'automate Amicus (Fenwal/Fresenius Kabi) a été contrôlé avec le DMU d'aphérèse D4R2307 (Fenwal/Fresenius Kabi) issu du lot FA16J03212.

À noter que le contrôle préliminaire du DMU a été effectué sur un lot différent : FA16I05192.

1.1. Obtention des échantillons

Des simulations d'aphérèse ont été réalisées en remplaçant le donneur par un flacon d'eau Aqua B. Braun. De manière à réaliser le montage, la tubulure côté donneur contenant initialement l'aiguille de prélèvement a été coupée aux ciseaux de manière à la plonger directement dans le flacon donneur.

Les simulations d'aphérèse ont été réalisées en respectant au maximum les conditions réelles de fonctionnement. Cependant l'automate fonctionnant mal avec de l'eau, les cycles n'ont pas pu être réalisés correctement (problème de débit/mise en alarme).

Les contenus des différents récipients obtenus suite aux aphérèses ont été transférés en évitant la formation de bulles d'air dans de la verrerie (bécher 200 mL) nettoyée et contrôlée pour être exempte de particules selon la Ph. Eur. Chapitre 2.9.19.

1.2. Résultats des contrôles préliminaires

Le contrôle des conditions opératoires et du matériel a été effectué pour le contrôle de l'automate Amicus :

Dénomination	Référence	Lot	Condition	Contenance estimée (mL)	≥ 1 µm part./mL	≥ 5 µm part./mL	≥ 10 µm part./mL	≥ 25 µm part./mL
			Spécifications Ph. Eur. 2.9.19. méthode 1		/	/	≤ 25 part./mL	≤ 3 part./mL
Anticoagulant ACDA	Macopharma	16J06A		1 000	725	49	3	0
Eau purifiée pour irrigation	B. Braun 75/12604016/0410	164478001	Dans bouteille	1000	18	1	0	0
Chlorure de sodium 0,9%	Macopharma	16J12I		500	208	11	0	0
Poche de transfert 1	Fenwal D4R2307	FA16I05192		89,4	1351	160	19	0
Poche de transfert 2	Fenwal D4R2307	FA16I05192		91,5	1424	174	17	0
Poche plaquette 1	Fenwal D4R2307	FA16I05192		122,9	43	6	1	0
Poche plaquette 2	Fenwal D4R2307	FA16I05192		121,4	33	2	0	0
Poche Plasma	Fenwal D4R2307	FA16I05192		129,3	2174	283	29	0

Commentaire

L'anticoagulant ACDA et la solution de chlorure de sodium nécessaires à la réalisation d'une aphérèse comportent peu de particules non visibles et ils sont donc utilisables pour nos contrôles.

L'eau purifiée B. Braun en bouteille comporte très peu de particules non visibles et peut donc être utilisée comme réservoir donneur dans nos contrôles (qualité proche de l'eau exempte de particules).

Le contrôle des différents compartiments du DMU D4R2307 (FA16I05192) a révélé la présence de particules non visibles. Certains éléments (les poches plaquette) comportent peu de particules non visibles et sont donc utilisables pour nos contrôles. D'autres éléments (les poches de transferts) comportent de nombreuses particules non visibles mais conformes à la Ph. Eur. Enfin, un élément (la poche plasma) apparaît non conforme à la Ph. Eur. Chapitre 2.9.19.

Cette présence de particules rend difficile toute interprétation des résultats obtenus lors des aphérèses suivantes.

À noter que la qualité du plastique des poches plaquette semble différente des autres parties du DMU.

1.3. Résultats particules non visibles

Etiquette EFS N° LIMS ANSM	Dénomination	Référence	Lot	Condition	Contenance estimée (mL)	≥ 1 µm part./mL	≥ 5 µm part./mL	≥ 10 µm part./mL	≥ 25 µm part./mL
				Spécifications Ph. Eur. 2.9.19. Méthode 1		/	/	≤ 25 part./mL	≤ 3 part./mL
7217 094998 4 17-01104-01171	Réservoir donneur	B. Braun 75/12604016/0410	164478001	Normale Problème débit	1000	26	1	0	0
	Anneau de centrifugation	Fenwal D4R2307	FA16J03212		70	2 976	119	4	0
	Poche de transfert 1	Fenwal D4R2307	FA16J03212		50	3 795	292	12	0
	Poche de transfert 2	Fenwal D4R2307	FA16J03212		70	2 134	120	3	0
	Poche plaquette	Fenwal D4R2307	FA16J03212		75	99	3	0	0
	Poche Plasma	Fenwal D4R2307	FA16J03212		0	-	-	-	-

7217 095000 2 17-01105-01172	Réservoir donneur	B. Braun 75/12604016/0410	164478001	Normale Problème débit	1000	40	4	2	2
	Anneau de centrifugation	Fenwal D4R2307	FA16J03212		130	1 861	74	5	0
	Poche de transfert 1	Fenwal D4R2307	FA16J03212		0	-	-	-	-
	Poche de transfert 2	Fenwal D4R2307	FA16J03212		0	-	-	-	-
	Poche plaquette	Fenwal D4R2307	FA16J03212		100	77	11	5	0
	Poche Plasma	Fenwal D4R2307	FA16J03212		0	-	-	-	-

Commentaire

Les problèmes de débit rencontrés lors des aphérèses n'ont pas permis de remplir la totalité des compartiments à contrôler.

Les résultats obtenus lors de ce contrôle sont tous conformes à la Ph. Eur. Cependant, les poches de plasma retrouvées non conformes lors du contrôle préliminaire n'ont pas pu être contrôlées suite problème de débit.

1.4. Résultats particules visibles

Des particules visibles de types plastiques (contamination possible lors de la coupe de tubulure) et fibres ont été observées dans l'ensemble des échantillons.

1.5. Synthèse

Concernant les particules non visibles, les résultats obtenus sont conformes à la Ph. Eur. Chapitre 2.9.19. Concernant les particules visibles, des particules de type plastique (contamination possible lors de la coupe de tubulure) et fibres ont été observées dans les échantillons. Néanmoins, aucune particule noire n'a été observée dans l'ensemble des échantillons testés.

2 / AUTOMATE AUTOPHERESIS C

L'automate Autopheresis-C (Fenwal/Fresenius Kabi) a été contrôlé avec le DMU de plasmaphérèse D4R2205 (Fenwal/Fresenius Kabi) issu du lot FA16E17120.

2.1. Obtention des échantillons

Des simulations d'aphérèse ont été réalisées en remplaçant le donneur par un flacon d'eau Aqua B. Braun. De manière à réaliser le montage, la tubulure côté donneur contenant initialement l'aiguille de prélèvement a été coupée aux ciseaux de manière à la plonger directement dans le flacon donneur.

Les simulations d'aphérèse ont été réalisées en respectant au maximum les conditions réelles de fonctionnement. Cependant l'automate ne fonctionnant pas avec de l'eau, les cycles n'ont pas pu être réalisés correctement (mouillage du système et du spinner mais arrêt de l'automate lors du remplissage du réservoir retour donneur). Seul un écoulement d'eau à travers le DMU a pu être effectué.

Les contenus des différents récipients ont été transférés en évitant la formation de bulles d'air dans de la verrerie (bêcher 200 mL) nettoyée et contrôlée pour être exempte de particules selon la Ph. Eur. 2.9.19.

2.2. Résultats des contrôles préliminaires

Le contrôle des conditions opératoires et du matériel a été effectué pour le contrôle de l'automate Autopheresis-C.

Dénomination	Référence	Lot	Condition	Contenance estimée (mL)	≥ 1 µm part./mL	≥ 5 µm part./mL	≥ 10 µm part./mL	≥ 25 µm part./mL
			Spécifications Ph. Eur. 2.9.19. Méthode 1		/	/	≤ 25 part./mL	≤ 3 part./mL
Anticoagulant ACDA	Macopharma	16K16A		500	424	52	15	0
Eau purifiée pour irrigation	B. Braun 75/12604016/0410	164478001	Dans bouteille	1000	18	1	0	0
Poche plasma	Fenwal D4R2205	FA16E17120		428	1651	184	22	0
Réservoir retour donneur	Fenwal D4R2205	FA16E17120		180	58	25	7	0

Commentaire

L'anticoagulant ACDA nécessaire à la réalisation d'une plasmaphérese comporte peu de particules non visibles et il est donc utilisable pour nos contrôles.

L'eau purifiée B. Braun en bouteille comporte très peu de particules non visibles et peut donc être utilisée comme réservoir donneur dans nos contrôles (qualité proche de l'eau exempte de particules).

Les éléments du DMU D4R2205 (FA16E17120) sont conformes aux spécifications de la Pharmacopée européenne. On note cependant que la poche plasma comporte un niveau de « base » de particules assez élevé.

2.3. Résultats particules non visibles

Etiquette EFS N° LIMS ANSM	Dénomination	Référence	Lot	Condition	Contenance estimée (mL)	≥ 1 µm part./mL	≥ 5 µm part./mL	≥ 10 µm part./mL	≥ 25 µm part./mL
				Spécifications Ph. Eur. 2.9.19. Méthode 1		/	/	≤ 25 part./mL	≤ 3 part./mL
72 7 0019501 7 17-00961- 01007	Poche plasma	Fenwal D4R2205	FA16E17120	Par écoulement d'eau à travers le DMU, pas de retour donneur	224	1 123	149	15	0
	Réservoir retour donneur	Fenwal D4R2205	FA16E17120		37	50	19	8	0

Les résultats obtenus lors de ce contrôle sont tous conformes à la Ph. Eur. Chapitre 2.9.19.

2.4. Résultats particules visibles

Non effectué en raison de l'impossibilité de simuler des aphéreses.

2.5. Synthèse

Les résultats obtenus sont conformes à la Ph. Eur. Chapitre 2.9.19.

3 / AUTOMATE TRIMA ACCEL

L'automate Trima Accel (Terumo) a été contrôlé avec le DMU d'aphérèse 82383 (Terumo) issu du lot 07Z2113.

À noter que le contrôle préliminaire du DMU a été effectué sur un lot différent : 11Z2129.

3.1. Obtention des échantillons

Des simulations d'aphérèses ont été réalisées en remplaçant le donneur par un flacon d'eau Aqua B. Braun. De manière à réaliser le montage, la tubulure côté donneur contenant initialement l'aiguille de prélèvement a été coupée aux ciseaux de manière à la plonger directement dans le flacon donneur.

Les simulations d'aphérèses ont été réalisées en respectant au maximum les conditions réelles de fonctionnement : 10 cycles d'eau Aqua B. Braun (en remplacement du sang total). À noter que 425 mL d'ACDA sont utilisés au cours de l'aphérèse qui se retrouvent au final dans le flacon donneur et la poche plasma.

Les contenus des différents récipients obtenus suite aux aphérèses ont été transférés en évitant la formation de bulles d'air dans de la verrerie (bêcher 200 mL) nettoyée et contrôlée pour être exempte de particules selon la Ph. Eur. Chapitre 2.9.19.

3.2. Résultats des contrôles préliminaires

Le contrôle des conditions opératoires et du matériel a été effectué pour le contrôle de l'automate Trima Accel.

Dénomination	Référence	Lot	Condition	Contenance estimée (mL)	≥ 1 µm part./mL	≥ 5 µm part./mL	≥ 10 µm part./mL	≥ 25 µm part./mL
			Spécifications Ph. Eur. 2.9.19. Méthode 1		/	/	≤ 25 part./mL	≤ 3 part./mL
Anticoagulant ACD-A	Macopharma	16J06A		1 000	725	49	3	0
Eau purifiée pour irrigation	B. Braun 75/12604016/0410	164478001	Dans bouteille	1000	18	1	0	0
Poche plaquette 1	Terumo 82383	11Z2129		195	1283	186	14	0
Poche plaquette 2	Terumo 82383	11Z2129		210	1173	177	14	0
Poche plasma	Terumo 82383	11Z2129		430	855	59	10	0

Commentaire

L'anticoagulant ACDA nécessaire à la réalisation d'une aphérèse comporte peu de particules non visibles et est donc utilisable pour nos contrôles.

L'eau purifiée B. Braun en bouteille comporte très peu de particules non visibles et peut donc être utilisée comme réservoir donneur dans nos contrôles (qualité proche de l'eau exempte de particules).

Le contrôle des différents compartiments du DMU 82383 (11Z2129) a révélé la présence de particules non visibles en nombre élevé mais conforme à la Ph. Eur. Chapitre 2.9.19.

Ces résultats de niveau « de base » de particules non visibles peuvent rendre difficile l'interprétation des résultats après simulation des aphérèses.

3.3. Résultats particules non visibles

Etiquette EFS N° LIMS ANSM	Dénomination	Référence	Lot	Condition	Contenance estimée (mL)	≥ 1 µm part./mL	≥ 5 µm part./mL	≥ 10 µm part./mL	≥ 25 µm part./mL
				Spécifications Ph. Eur. 2.9.19. Méthode 1		/	/	≤ 25 part./mL	≤ 3 part./mL
7217 076750 7 17-00962- 01008	Réservoir donneur	B. Braun 75/12604016/0410	164478001	Normale	655	3 137	66	1	0
	Poche plaquette 1	Terumo 82383	07Z2113		76	6 702	76	2	0
	Poche plaquette 2	Terumo 82383	07Z2113		65	7 847	111	3	0
	Poche plasma	Terumo 82383	07Z2113		552	3296	57	2	0
7217 0949992 17-01103- 01170	Réservoir donneur	B. Braun 75/12604016/0410	164478001	Normale	524	1 344	44	1	0
	Poche plaquette 1	Terumo 82383	07Z2113		50	2 176	72	3	0
	Poche plaquette 2	Terumo 82383	07Z2113		65	2 450	98	3	0
	Poche plasma	Terumo 82383	07Z2113		343	1816	54	1	0

Commentaire

Les résultats obtenus lors de ce contrôle sont tous conformes à la Ph. Eur.
Une forte homogénéité des résultats entre les différents compartiments contrôlés est à noter.

3.4. Résultats particules visibles

Commentaire

Des particules visibles (filaments blancs) ont été observées dans le contenu des deux poches plaquette.
Les contenus du réservoir donneur et de la poche plasma sont exempts de particules visibles.

3.5. Synthèse

Concernant les particules non visibles, les résultats obtenus sont conformes à la Ph. Eur. Chapitre 2.9.19.
Concernant les particules visibles, des particules de type plastique (contamination possible lors de la coupe de tubulure) et fibres ont été observées dans certains échantillons. Néanmoins, aucune particule noire n'a été observée dans l'ensemble des échantillons testés.

4 / SYNTHESE POUR LES TROIS AUTOMATES

Pour les trois automates, les résultats obtenus pour la recherche des particules non visibles sont conformes aux spécifications de la Pharmacopée Européenne Chapitre 2.9.19.

Concernant les particules visibles (recherche effectuée par 2 automates sur 3), des particules de type plastique (contamination possible lors de la coupe de tubulure) et fibres ont été observées dans les échantillons.

Néanmoins, aucune particule noire n'a été observée dans l'ensemble des échantillons testés.

CONCLUSION GENERALE

Dans les conditions de l'étude, aucune particule visible noire n'a été observée dans les différentes poches (plasma, plaquette...) quel que soit le type de machine d'aphérèse ou le DMU utilisé.

Concernant les particules non visibles, les taux retrouvés sont faibles sur l'ensemble des analyses conduites. Des taux un peu supérieurs ont été observés pour les 998CF-FP-SL et 999FF-P-SL utilisés avec la machine d'aphérèse MCS+ d'Haemonetics (et ce avant et après passage en aphérèse).

Concernant, les machines d'aphérèse Haemonetics, les analyses en MEB n'ont pas permis d'isoler d'éléments traceurs des joints dans les échantillons.

La directrice
Direction des Contrôles

Françoise DUPERRAY