

Rapport de validation Intercept – Plaquettes, menée au SRTS – VD

Auteur du rapport: Niels Lion

Date de préparation du rapport: Décembre 2010

Modifications par rapport à la version précédente :

- Ajout d'une table des matières
- Ajout des valeurs d'amotosalen résiduel dans les concentrés plaquettaires
- Ajout d'un schéma de flux des produits plaquettaires

Table des matières

Introduction.....	3
Etape de pré-validation.....	4
Réglage du ratio plasma.....	4
Mesure des volumes et extractions plaquettaires.....	5
Validation.....	6
Respect des guardbands.....	8
Validité du ratio plasma 32-47%.....	8
Validité des volumes	8

Validation Intercept plaquettes – SRTS VD

Validité des rendement plaquettaire	9
Etat du projet au SRTS VD	9
Aspects techniques	9
Formation des infirmières et techniciennes	10
Traçabilité et informatique	10
Conclusion	10

Introduction

La production annuelle de produits sanguins labiles au SRTS VD repose sur la collecte de 30'000 dons de sang complet ainsi que 2'200-2'300 collectes de plaquettes par aphérèse. Ces collectes permettent de préparer 30'000 concentrés érythrocytaires, 3'000 concentrés plaquettaires, et 8'000 litres de plasma pour fractionnement. Les concentrés plaquettaires sont collectés (cibles 3.1 et 6.0 10^{11} plaquettes par poche pour les simples et doubles doses, respectivement) et stockés en 100% plasma. La chaîne de production de sang complet est optimisée pour la production de concentrés érythrocytaires et l'extraction de plasma pour fractionnement.

L'introduction du procédé Intercept pour l'inactivation des pathogènes dans les concentrés plaquettaires représente pour le SRTS VD l'opportunité d'introduire la production de concentrés plaquettaires à partir de sang complet par pooling de Buffy coat tout en disposant de concentrés plaquettaires d'une sécurité équivalente aux concentrés plaquettaires d'aphérèse.

L'introduction du procédé Intercept a donc nécessité la modification complète de tout le procédé de production au SRTS VD, comme illustré ci-dessous :

Validation Intercept plaquettes – SRTS VD

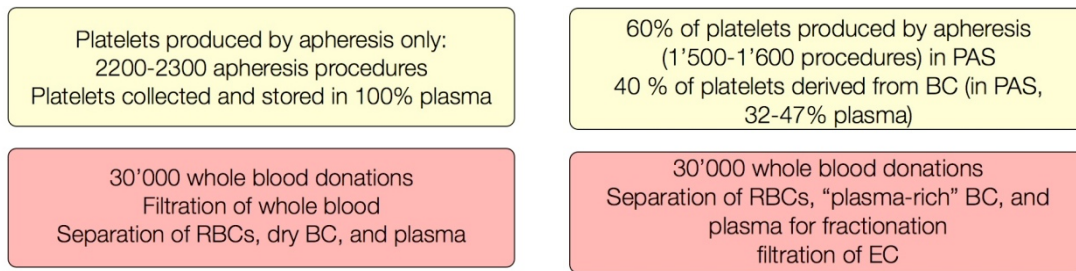


Figure 1. Procédé de production optimisé pour les concentrés érythrocytaires et le plasma pour fractionnement (à gauche) et procédé compatible avec la production de concentrés plaquettaires et l'inactivation des pathogènes (à droite).

Etape de pré-validation

Concernant l'aphérèse, seuls quelques essais ont été réalisés pour la collecte en solution additive (PASIII, Intersol, Fenwal), qui ont montré que le ratio plasma cible de 39% était correctement assuré par la Trima (Caridian); mais la validation complète du procédé de collecte n'a pas encore effectuée (le changement de nos Trima est en cours et la validation sera faite sur les nouvelles machines début Janvier). Toute la prévalidation ainsi que la validation a été faite sur des concentrés plaquettaires issus de sang complet.

Réglage du ratio plasma

La quantité de plasma contenue dans les Buffy coats utilisés pour la production de concentrés plaquettaires a été réglée par modification des paramètres des Optipress II (Fenwal)(hauteur de l'interface et volume du Buffy coat). Les données ci-dessous ont été obtenues sur 4 Optipress (les paramètres de 5 buffy coats ont été mesurés sur chaque Optipress). Au total, les Buffy coats ont un volume de 61.5 ± 3.6 mL (min=52 mL, max=66 mL), avec un contenu en plasma (estimé à partir de l'hématocrite du Buffy coat) de 38.3 ± 2.2 mL (min=32

Validation Intercept plaquettes – SRTS VD

mL, max=41 mL), ce qui donne un ratio plasma dans le concentré plaquettaire de $40.6 \pm 1.4\%$ (min=36.5%, max=42.4%) (après ajout de 280 mL de solution additive Intersol, Fenwal). La répartition des ratios plasma dans les CPs est la suivante :

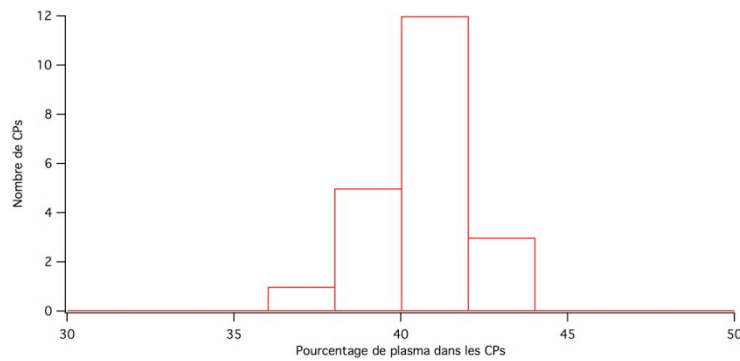


Figure 2. Distribution des ratios plasma dans les CPs (calculés à partir de l'hématocrite et du volume des Buffy coats).

Mesure des volumes et extractions plaquettaires

Sur 20 concentrés plaquettaires produits par pooling de 5 buffy coat, les caractéristiques des produits après filtration (i.e. avant inactivation) sont les suivantes : le volume est de 333.0 ± 17.2 mL (min = 305.1 mL, max= 370.2 mL), avec la répartition suivante :

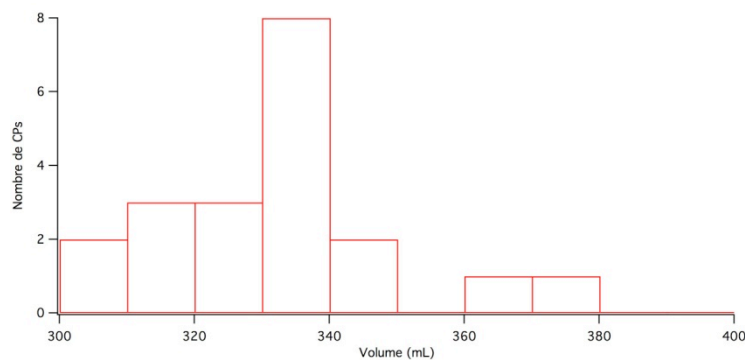


Figure 3. Répartition des volumes des CPs avant inactivation.

Validation Intercept plaquettes – SRTS VD

La quantité de plaquettes contenues dans les CPs avant inactivation est de $3.82 \pm 0.38 \cdot 10^{11}$ plaquettes par poche (min= $3.25 \cdot 10^{11}$, max= $4.44 \cdot 10^{11}$), avec la répartition suivante :

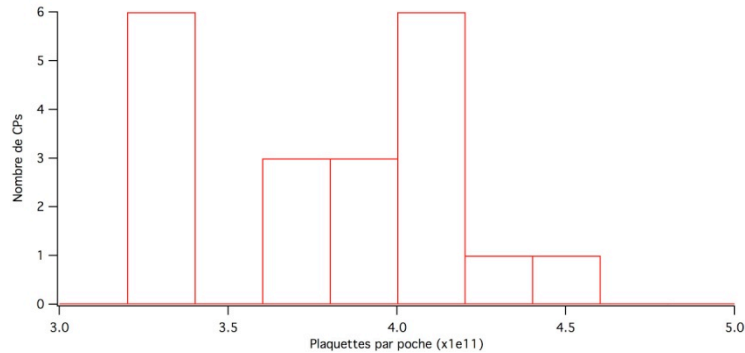


Figure 4. Répartition des contenus plaquettaires des CPs avant inactivation.

Validation

La validation du procédé Intercept d'inactivation des pathogènes dans les concentrés plaquettaires a été menée sur 12 concentrés plaquettaires issus de pooling de Buffy coat (6 avec un CAD de 6 heures, 6 avec un CAD de 16 heures). Les caractéristiques des concentrés plaquettaires avant inactivation sont les suivantes¹ :

Volume (mL)	Plaquettes (10^{11} / poche)	Globules rouges (10^6 /mL)	Leucocytes (10^6 /poche)
342 ± 12	3.97 ± 0.41	1.29 ± 0.57	0.06 ± 0.02

Les pools 1-6 ont été inactivés avec un temps de CAD de 6 heures, les pools 7-12 avec un temps de CAD de 16 heures. Tous les concentrés

¹ Les données individuelles se trouvent en annexe 1.

Validation Intercept plaquettes – SRTS VD

plaquettaires ont été inactivés en utilisant les kits Cerus Large Volume (référence INT2203B, No de lot 09J08L62, date de péremption 09/2011).

Les caractéristiques des produits après inactivation sont les suivantes :

Volume (mL)	Plaquettes (10^{11} / poche)	pH post CAD	pH à J5 (post-don)	pH à J7 (post-don)
324±11	3.60±0.38	7.13±0.05	6.81±0.09	6.63±0.09

Les valeurs d'amotosalen résiduel sont les suivantes sur l'ensemble des 12 concentrés plaquettaires : $0.30 \pm 0.12 \mu\text{M}$. L'écart type relativement large décrit la dépendance de la concentration d'amotosalen résiduel au temps de CAD. En effet, les 6 concentrés plaquettaires qui ont eu un temps de CAD de 6 heures ont des valeurs d'amotosalen résiduel de $0.42 \pm 0.03 \mu\text{M}$, et les 6 concentrés plaquettaires qui ont eu un temps de CAD de 16 heures ont des valeurs d'amotosalen résiduel de $0.19 \pm 0.01 \mu\text{M}$. En admettant que la distribution des concentrations d'amotosalen pour un temps de CAD donné est normale, on s'attend à ce que 99.7% des concentrés plaquettaires ayant eu un CAD de 6 heures aient une concentration résiduelle d'amotosalen de 0.32-0.52 μM (respectivement 0.14-0.23 μM pour un temps de CAD de 16 heures). Le CAD permet donc bien de garantir un taux d'amotosalen résiduel inférieur à 2 μM , quel que soit le temps de CAD utilisé dans la fourchette 6-16 heures.

Respect des guardbands

Validité du ratio plasma 32-47%

Comme illustré dans la Figure 2, les CPs produits par pooling de 5 buffy coats ont un ratio plasma de $40.6 \pm 1.4\%$; en acceptant que la distribution est normale, 99.7% des CPs produits auront un ratio plasma compris entre 36.4% et 44.8%. L'ensemble des CPs produits se situe donc largement dans la gamme 32-47% de plasma.

Validité des volumes

Lors de la pré-validation, un volume pré-inactivation de 333.0 ± 17.2 mL a été mesuré. En acceptant que la distribution des volumes est normale, 99.7% des CPs produits auront un volume compris entre 281.4 mL et 384.6 mL. Ce volume ne correspond pas aux spécifications des kits « Small volume » (255-325 mL) ou « Large volume » (300-420 mL). Lors de la validation, le volume des CPs obtenu est de 342 ± 12 mL, ce qui signifie que si la distribution des volumes était normale, 99.7% des CPs produits auraient un volume compris entre 306 mL et 378 mL (correspondant aux spécifications de volume du kit « Large Volume »). Etant donné que la distribution des volumes des CPs n'est pas normale (cf Figure 3), il a été décidé de peser tous les CPs issus de sang complet avant inactivation afin de garantir qu'ils sont traités avec le kit ad hoc (cf l'instruction de travail concernant le procédé Intercept).

Validation Intercept plaquettes – SRTS VD

Validité des rendement plaquettaire

Lors de la prévalidation, on a mesuré un contenu en plaquettes de $3.82 \pm 0.38 \cdot 10^{11}$ plaquettes par poche, ce qui veut dire qu'en admettant que la distribution est normale, 99.7% des poches auront un contenu en plaquettes de $2.68 - 4.96 \cdot 10^{11}$ plaquettes par poche. Cette gamme est largement comprise dans les spécifications Cerus ($2.5 - 6 \cdot 10^{11}$ pour le kit « Small volume » et $2.5 - 7 \cdot 10^{11}$ pour le kit « Large volume »).

De même, la contamination en globules rouges est maintenue à $1.29 \pm 0.57 \cdot 10^6$ /mL, ce qui veut dire que 99.7% des CPs auront une contamination en globules rouge inférieure à $3 \cdot 10^6$ /mL (guardband Cerus $< 4 \cdot 10^6$ /mL).

Etat du projet au SRTS VD

Aspects techniques

La production de CPs par pooling de 5 Buffy coats est techniquement au point, tous les consommables sont définis, les instructions de travail sont en cours d'approbation finale (cf documents joints).

La validation des collectes par aphérèse aura lieu début Janvier 2011 (deux nouvelles machines d'aphérèse Trima seront installées avec la version de logiciel 6.0).

Formation des infirmières et techniciennes

La formation des infirmières pour la collecte de CPs par aphérèse dans le respect des guardbands a commencé dans la deuxième moitié du mois de novembre.

La formation des techniciennes de production pour le pooling de Buffy coat a été effectué (6 techniciennes sont habilitées) de même que la formation à l'inactivation Intercept (4 techniciennes sur 5 ont été habilitées). Les certificats d'habilitation sont disponibles sur demande (un exemplaire est joint).

Traçabilité et informatique

La traçabilité (étiquetage) des produits a été testée, aussi bien pour l'aphérèse que pour le pooling de Buffy coat. Tous les scénarios de test (présence d'un marqueur positif, erreur isogroupe lors de pooling de Buffy coat...) ont été validés et fonctionnent dans notre système informatique. Les scénarios de test et rapport de validation sont disponibles sur demande.

Conclusion

La validation de l'inactivation des pathogènes dans les concentrés plaquettaires par le procédé Intercept a été menée avec succès (à la réserve près que les dosages d'amotosalen résiduel ne sont pas encore connus). Les CPs produits par pooling de 5 BC sont conformes aux spécifications Cerus (respect des guardband à 99.7%).

Validation Intercept plaquettes – SRTS VD

Annexe 1 : Données individuelles des concentrés plaquettaires utilisés pour la validation (avant inactivation Intercept)

Pool	Volume (mL)	Plaquettes (10^{11} / poche)	Globules rouges (10^6 /mL)	Leucocytes (10^6 /poche)
1	362	4.6	1	0.08
2	347	3.5	1.25	0.03
3	337	4.2	0.75	0.05
4	331	3.6	1.25	0.05
5	333	4.7	0.5	0.09
6	336	3.6	2.75	0.05
7	339	4.4	1.00	0.11
8	344	4.2	1.5	0.07
9	357	3.6	1.25	0.05
10	345	3.7	1	0.05
11	329	4.0	1.75	0.05
12	355	3.6	1.5	0.04
Moyenne ± écart type	342±12	3.97±0.41	1.29±0.57	0.06±0.02

Validation Intercept plaquettes – SRTS VD

Annexe 2 : Données individuelles des concentrés plaquettaires utilisés
pour la validation (après inactivation Intercept)

Pool	Volume (mL)	Plaquettes (10 ¹¹ / poche)	pH post CAD	pH à J5 (post-don)	pH à J7 (post-don)	Amotosalen résiduel (μM)
1	340	3.8	7.1	6.8	6.7	0.38
2	334	3.8	7.1	6.7	6.6	0.39
3	320	3.2	7.1	6.7	6.5	0.47
4	307	3.4	7.1	6.8	6.6	0.42
5	314	3.5	7.1	6.8	6.6	0.42
6	312	3.7	7.2	7.0	6.8	0.44
7	320	4.3	7.2	6.8	6.7	0.21
8	326	3.2	7.1	6.9	6.7	0.18
9	334	3.8	7.1	6.7	6.5	0.17
10	333	3.2	7.2	6.8	6.6	0.20
11	310	4.1	7.1	6.8	6.6	0.18
12	335	3.3	7.1	6.9	6.6	0.19
Moyenne ± écart type	324±11	3.60±0.38	7.13±0.05	6.81±0.09	6.63±0.09	0.30±0.12