

UN CONSULTANT
À VOTRE SERVICE :

DOSSIERS
RÉGLEMENTAIRES

AUDITS

VALIDATIONS DE
PROCÉDÉS

LOBBYING
NORMATIF

FORMATION

Aurélien BIGNON
Consultant
PhD, Expert D.M.



+33 (0)6 79 82 08 22

a.bignon@biom-advice.com

45A rue de Margnolles
Caluire et Cuire (69) - FRANCE

www.biom-advice.com

© BIOM ADVICE

EXTRACTION avant caractérisation chimique des dispositifs médicaux (DM) : ISO 10993-12 (2021) & ISO 10993-18 (2020)

Note d'analyse Tech & Reg, Février 2021

La parution en Janvier 2021 de la nouvelle ISO 10993-12 « Évaluation biologique des dispositifs médicaux - Partie 12 : Préparation des échantillons et matériaux de référence », qui fait suite à l'évolution de l'ISO 10993-18 « Partie 18 Caractérisation chimique des matériaux des dispositifs médicaux au sein d'un processus de gestion du risque » (Janvier 2020) est l'occasion de revenir sur les interactions entre ces deux normes. Dans cette *Note d'analyse Tech & Reg*, BioM ADVICE analyse pour vous les quelques nouveautés de la version 2021 de l'ISO 10993-12 pour la préparation d'échantillons en vue d'une caractérisation chimique et revient sur les points techniques importants qu'il faut considérer pour la réalisation d'extractions.

Les nouveautés de la version 2021 de l'ISO 10993-12

Il faut tout d'abord noter que l'ISO 10993-12 a été historiquement conçue pour traiter le sujet de la préparation des échantillons en vue d'essais biologiques *in vivo* ou *in vitro*. Jusqu'en 2020 (date de révision de l'ISO 10993-18), elle était également utilisée, à défaut d'autre référentiel, pour la préparation d'échantillons en vue d'une caractérisation chimique. Lors de sa révision, il a été question qu'elle ne s'applique plus aux caractérisations chimiques, mais il a finalement été décidé qu'elle resterait applicable, avec un champ d'application restreint. Le « Domaine d'application » (§1) précise désormais que :

« Les extractions relatives à la caractérisation chimique sont couvertes par l'ISO 10993-18. Les articles 7, 8, 9, 10 [hormis pour 10.3.5 et 10.3.11 b)], et 11 [... de l'ISO 10993-12...] sont applicables aux extractions relatives à la caractérisation chimique. Les informations fournies de C.1 à C.4 peuvent également être pertinentes. »

Il y a peu d'autre nouveautés importantes qui concernent la caractérisation chimique. On peut noter cependant les points suivants :

- §3.4 sur la définition de l'extraction exhaustive : introduction de la possibilité d'autres moyens que la méthode gravimétrique (définition qui s'aligne donc avec celle de l'ISO10993-18). En pratique, c'est cependant la méthode gravimétrique qui est la plus utilisée.
- §7 sur le choix des échantillons : ajout de la mention que « Pour les matériaux absorbables qui pourraient présenter des produits de dégradation et des résidus toxiques, il convient d'envisager des essais sur des produits intermédiaires ».
- §9.5 sur les parties d'échantillon testé : il est précisé que « Il convient, si possible, d'exclure physiquement des extraits de l'échantillon les parties du dispositif médical sans contact avec le patient ou d'exclure la surface concernée lors du calcul du rapport d'extraction ». Exclure physiquement les parties du DM sans contact patient est la solution à privilégier car elle évite que des extractibles soient générés par les zones sans contact. Cela peut cependant poser quelques difficultés techniques : il ne faut pas contaminer l'échantillon en le coupant ou en le démontant, et si un process de fabrication spécifique est utilisé pour produire

l'échantillon, il faut s'assurer que celui-ci reste représentatif du produit final. Si ces solutions ne sont pas réalisables, alors il convient d'exclure la surface concernée lors du calcul du rapport d'extraction (le volume de solvant sera calculé uniquement sur la base des surfaces en contact patient).

- §9.5 sur les parties d'échantillon testé : il est précisé que « Il peut être nécessaire d'extraire et d'évaluer séparément les composants de dispositifs médicaux ayant un type ou une durée de contact différents avec les tissus ». Par exemple il faut extraire et évaluer séparément un implant et son préhenseur prémonté.
- §11 sur le rapport d'essai : des précisions sont apportées sur les éléments à fournir sur les caractéristiques de l'extrait « (par exemple couleur, clarté, présence de particules éventuelles) doivent également être décrites et, le cas échéant, photographiées ». Cela permet par exemple d'objectiver une dégradation éventuelle des échantillons pendant l'extraction (qui doit normalement être évitée).

⇒ *Les deux normes ISO 10993-12 (2021) et ISO 10993-18 (2020) contiennent des exigences ou des recommandations concernant l'extraction. Celles-ci sont généralement complémentaires, mais il peut arriver qu'elles semblent incompatibles. Les paragraphes suivants ont pour objectif de clarifier certains points techniques.*

Extraction simulée, exagérée ou exhaustive ?

L'ISO 10993-18 définit 3 types d'extraction :

<p>Extraction Simulée : Une extraction avec simulation d'utilisation est réalisée afin d'estimer le type et la quantité de substances supposées être libérées par un dispositif médical au cours de son utilisation clinique.</p>
<p>Extraction Exagérée : Extraction destinée à aboutir à la libération d'un plus grand nombre ou d'une plus grande quantité de constituants chimiques par rapport à la quantité produite dans des conditions cliniques d'utilisation</p>
<p>Extraction Exhaustive : Extraction en plusieurs étapes réalisée pour que la quantité de matériau extraite retrouvée dans une étape d'extraction ultérieure représente moins de 10 % de celle détectée, par analyse gravimétrique (ou par tout autre moyen), lors de l'étape d'extraction initiale</p>

Tableau 1 : Les 3 types d'extraction selon l'ISO 10993-18 (2020)

Pour savoir quel type d'extraction réaliser, il faut commencer par catégoriser la durée de contact du dispositif médical selon l'ISO 10993-1 (rappelons que cette durée doit tenir compte des contacts multiples ou répétés), puis se reporter au tableau 2 du paragraphe 5.6 de l'ISO 10993-18 reproduit ci-dessous.

Classe de contact	Conditions d'extraction recommandées	Alternatives crédibles
Dispositifs à contact limité	Conditions d'utilisation simulée ^a	Conditions exagérées
Dispositifs à contact prolongé	Conditions exhaustives	Conditions exagérées ^{b,c}
Dispositifs avec contact à long terme	Conditions exhaustives	Conditions exagérées ^{b,c,d}

^a Certaines autorités légales (pas exemple, U.S. FDA) peuvent demander des extractions exagérées, à moins autrement justifié.

^b Exemples de cas où une extraction exhaustive n'est généralement pas nécessaire:

— les dispositifs à usage unique utilisés pendant moins de 24 h, alors que l'utilisation répétée d'un nouveau dispositif chaque jour entraînerait la classification dans la catégorie des contacts prolongés ou à long terme;

— les dispositifs à usage unique utilisés pendant plusieurs jours, alors que l'utilisation répétée de nouveaux dispositifs entraînerait la classification dans la catégorie des contacts prolongés ou à long terme;

— les dispositifs réutilisables, où un patient peut être exposé à l'utilisation répétée du même dispositif, ce qui entraîne la classification dans la catégorie des contacts prolongés ou à long terme. Lorsqu'une extraction exagérée est appliquée à un dispositif réutilisable, il convient de bien tenir compte de la durée de chaque utilisation individuelle.

^c Des conditions exagérées peuvent convenir dans le cas de dispositifs communiquant avec l'extérieur ou de dispositifs à contact superficiel non absorbables, sous réserve de justification.

^d Exemple: un dispositif composé entièrement de métal non absorbable (tel qu'un stent vasculaire), étant donné que la migration des constituants à l'intérieur du matériau est impossible, que les constituants d'intérêt sont uniquement liés à la surface et que l'extraction exagérée peut permettre de créer un profil complet des substances extractibles.

Tableau 2 : Conditions d'extraction recommandées (ISO 10993-18 : 2020)

Selon ce tableau, l'extraction simulée ne doit être utilisée que pour des DM à contact limité (<24h). En pratique, démontrer que des conditions simulent les conditions cliniques est souvent très difficile pour les DM en contact direct avec le corps car il est difficile d'établir quel volume de fluide biologique est en contact avec le DM et quelle est la puissance d'extraction du fluide biologique. Ainsi, il est souvent plus facile de démontrer que l'on exagère les conditions cliniques. L'extraction simulée, est surtout applicable pour les DM à contact indirect < 24h car ces questions sont alors plus faciles à résoudre.

Pour des DM à contact prolongé (< 30 jours) ou long-terme (> 30 jours), une extraction exhaustive doit en général être réalisée. Il y a quelques exceptions, lorsque la catégorie de durée est liée à un usage multiple ou répété : par exemple pour une lentille de contact journalière (en contact moins de 24h avec l'œil avant d'être jetée et remplacée par une nouvelle lentille : donc contact cumulé long-terme), il est tout à fait justifiable de réaliser une extraction exagérée, par exemple de 24h, pour évaluer la quantité de substances relarguées de manière journalière.

Choix des conditions d'extraction : solvants, temps et température

L'augmentation de température d'extraction va augmenter la cinétique de migration des substances de l'intérieur du matériau du DM vers sa surface, puis de sa surface vers le solvant. Ainsi, une température et/ou un temps d'extraction supérieurs aux conditions d'usage clinique du DM va exagérer l'extraction. Ce sujet est traité à la fois dans l'ISO 10993-18 et dans l'ISO 10993-12. Les deux normes demandent de justifier les conditions d'extraction, mais l'ISO 10993-18 donne des pistes pour cette justification, tandis que l'ISO 10993-12 fournit une liste de conditions standards :

- a) $(37 \pm 1) ^\circ\text{C}$ pendant (24 ± 2) h
- b) $(37 \pm 1) ^\circ\text{C}$ pendant (72 ± 2) h
- c) $(50 \pm 2) ^\circ\text{C}$ pendant (72 ± 2) h
- d) $(70 \pm 2) ^\circ\text{C}$ pendant (24 ± 2) h
- e) $(121 \pm 2) ^\circ\text{C}$ pendant $(1 \pm 0,1)$ h

On peut donc recommander de choisir si possible l'une des conditions ci-dessus (cela a l'avantage de standardiser les paramètres), mais le plus important est de justifier les conditions

d'extraction en se servant de l'annexe D de l'ISO 10993-18. À noter que la FDA recommande d'utiliser des températures supérieures à 37°C pour les DM à contact prolongé ou long-terme (cf. 2020 FDA guidance on the use of ISO 10993-1).

Le choix du solvant va dépendre de la puissance d'extraction souhaitée et de sa compatibilité avec le matériau du DM. Comme l'ISO 10993-12, l'ISO 10993-18 définit que l'extraction doit être faite, au minimum, dans un solvant polaire (généralement l'eau ou une solution saline) et dans un solvant non-polaire (généralement l'hexane lorsque ce solvant ne risque pas de dégrader le DM). À noter que la FDA demande généralement d'utiliser un troisième solvant de polarité intermédiaire, surtout pour les polymères et les implants. Le tableau D.1 de l'ISO 10993-18 fournit les index de polarité de différents solvants possibles. Sauf pour une étude des produits de dégradation, le solvant choisi ne doit pas dégrader le DM. Cela peut être un risque avec certains polymères : selon l'ISO 10993-12, « Pour les matériaux ou les dispositifs médicaux qui ne sont pas conçus pour se dissoudre ou être absorbés dans les conditions d'utilisation, aucun solvant utilisé lors de l'extraction d'un matériau ou d'un dispositif médical à base de polymères ne doit provoquer la solubilisation des constituants du polymère. Aucun assouplissement ni déformation du matériau polymère ne doit se produire en présence d'un solvant volatil. Il convient que les solvants choisis ne compromettent pas (par exemple par un gonflement important, la formation et la dégradation de particules) le matériau ou les dispositifs médicaux ». Ainsi, il est parfois nécessaire de justifier l'utilisation d'un solvant de polarité intermédiaire (éthanol, alcool isopropylique...) à la place de l'hexane : cette justification peut se baser sur la polarité des fluides biologiques en contact avec le DM (voir annexe D de l'ISO 10993-18).



Nombre d'extractions par solvant

Le nombre d'extractions par solvant, et donc le nombre de caractérisations chimique à réaliser a fait l'objet d'après discussions à l'ISO, la FDA souhaitant initialement que les caractérisations chimiques soient réalisées en triple... La norme spécifie finalement (§5.6) qu'une caractérisation unique par solvant peut être suffisante s'il est établi que la variabilité de la composition du DM et la variabilité du process d'extraction sont faibles :

- La démonstration de la faible variabilité de la composition du DM revient au fabricant (en s'appuyant sur la validation de ses procédés de fabrication),
- Tandis que la faible variabilité du procédé d'extraction revient au laboratoire (en s'appuyant sur la validation de ses procédés d'extraction).

Lorsque la faible variabilité de l'un des deux points ci-dessus ne peut être démontrée, de multiples extractions (typiquement 3 par solvant) devront être réalisées. La norme cite des cas où cela pourrait être nécessaire en raison de la variabilité inhérente au DM : DM résorbables, DM polymérisant in situ...

Dans tous les cas, le nombre d'extractions devra être justifié.

Ratio d'extraction et AET

Le ratio d'extraction est la surface de DM extrait divisé par le volume de solvant utilisé pour réaliser l'extraction.

L'AET (Analytical Evaluation Threshold) est, selon l'ISO10993-18, un « seuil d'évaluation analytique au-dessous duquel l'analyste n'est pas tenu d'identifier ou de quantifier les produits relargables ou extractibles ou de les signaler en vue d'une éventuelle évaluation toxicologique ».

Comme nous allons le voir, ces 2 paramètres sont étroitement liés.

Selon l'ISO 10993-12 les ratios d'extraction du tableau ci-dessous peuvent être utilisés (à noter qu'ils ne sont donc pas obligatoires). Avec le recul, il est difficile de savoir comment ces ratios avaient été déterminés : il est probable qu'ils l'ont été de manière empirique, dans une volonté d'essayer de simuler la quantité de liquides biologiques qui peuvent entourer un DM in vivo. Il est cependant évident que ces ratios peuvent être assez éloignés de la réalité clinique.

Épaisseur ^a mm	Rapport d'extraction (aire ou poids/volume) ±10 %	Exemples de formes de matériaux
<0,5	6 cm ² /ml	film, feuille, paroi de tube
0,5 à 1,0	3 cm ² /ml	paroi de tube, plaque, petits articles moulés
>1,0	3 cm ² /ml	articles moulés plus grands
dispositifs solides de forme irrégulière	0,2 g/ml	poudre, pastilles, mousse, articles moulés non absorbants, matériaux poreux haute densité
dispositifs poreux de forme irrégulière (matériaux de basse densité)	0,1 g/ml	membranes, textiles

^a Si le dispositif médical comporte plusieurs composants de différentes épaisseurs en contact avec les tissus, il convient que le rapport d'extraction soit justifié. Pour ce faire, il est possible de fonder le rapport sur la couche de matériau la plus fine du composant concerné.

NOTE En l'absence de méthodes normalisées pour les essais portant sur les matériaux polymères absorbant les solvants (par exemple absorbants et hydrocolloïdes), le protocole suivant est suggéré:

- déterminer le volume de solvant d'extraction absorbé par 0,1 g ou 1,0 cm² de matériau;
- ensuite, au cours de l'extraction du matériau, ajouter ce volume supplémentaire par 0,1 g ou 1,0 cm² dans le mélange d'extraction.

Tableau 3 : Ratios d'extraction proposés dans l'ISO 10993-12 (2021)

L'AET (en µg/ml) se calcule de la manière suivante :

$$AET = \frac{DBT \cdot A}{B \cdot C \cdot UF}$$

DBT (Dose Based Threshold) est le seuil de toxicité des substances les plus toxiques, en µg/jour (généralement on prend les limites TTC de l'ICH M7 pour les substances mutagènes)

A est la quantité de dispositifs médicaux extraits

B est le volume d'extraction en ml. Ce volume est réduit autant que possible mais il est nécessaire que le DM testé soit submergé.

C est le nombre maximum de DM qui peut être utilisé chez un patient par jour. Attention, si le produit testé est représentatif d'une famille de différents dispositifs médicaux, il faut tenir compte de l'ensemble des DM de la famille et tenir compte du fait que le produit testé n'est pas forcément celui qui a la surface la plus importante parmi les produits de la famille.

UF est un facteur de sécurité lié à l'incertitude sur les résultats des méthodes analytiques de screening (fourni par le laboratoire d'essai)

L'objectif de l'introduction de la notion d'AET dans l'ISO 10993-18 (2020) est de s'assurer que les méthodes analytiques permettront de détecter (notion de limite de détection, LOD) et de quantifier (notion de limite de quantification, LOQ) les substances qui peuvent poser des risques toxicologiques.

Pour cela, il faut que les LOD et LOQ des méthodes de caractérisation chimiques employées par le laboratoire soient toutes deux inférieures à l'AET (Voir figure 1). Si la LOD et la LOQ sont > AET alors les méthodes analytiques sont inadéquates et la caractérisation chimique ne permettra pas de conclure sur les risques toxicologiques. Un cas intermédiaire est celui où $LOD < AET$ mais $LOQ > AET$: on sera capable de détecter les substances à risque, mais pas de les quantifier avec exactitude. Une hypothèse protectrice dans ce cas est de considérer, pour les substances comprises entre LOD et LOQ, que leur quantité est égale à la LOQ.

On voit donc que ratio d'extraction et AET sont liés :

- Si A (quantité de dispositifs médicaux extraits) augmente et que les autres paramètres restent fixes, alors l'AET augmente et le ratio d'extraction aussi.
- Si B (volume d'extraction) augmente, alors l'AET diminue et le ratio d'extraction aussi.

L'AET doit donc être calculé avant de réaliser les caractérisations chimiques. En première intention, les ratios proposés dans l'ISO 10993-12 peuvent être utilisés pour choisir les paramètres A et B (cela permet de standardiser le ratio utilisé), mais si la LOD et/ou la LOQ sont > AET, alors les conditions d'extraction doivent être optimisées en augmentant le ratio d'extraction (à noter qu'une limite technique est que le DM doit être totalement immergé selon l'ISO 10993-12 §9.5).

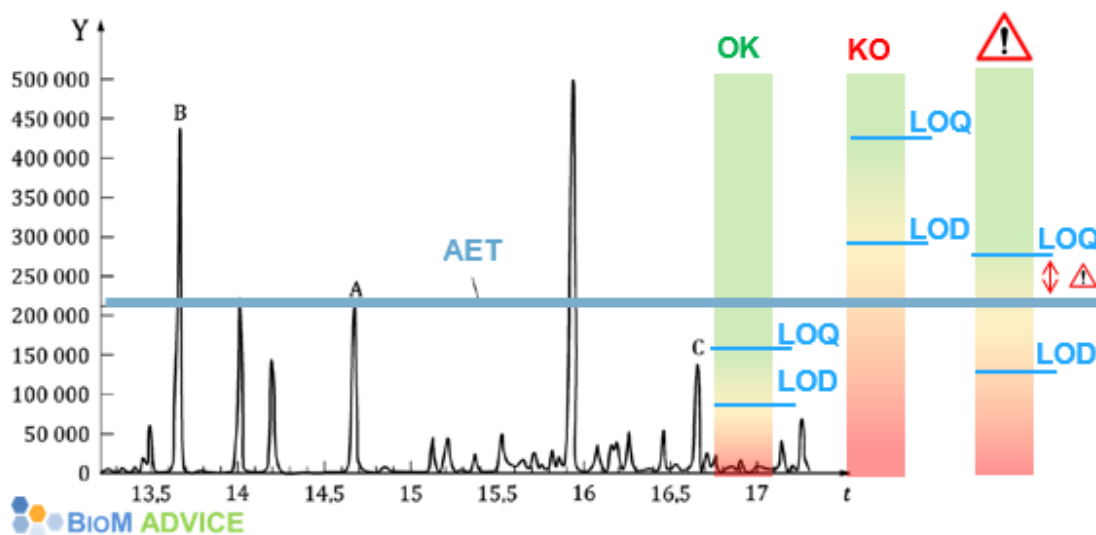


Figure 1 : Relation entre l'AET (Analytical Evaluation threshold), limite de détection (LOD) et limite de quantification (LOQ)

Démonstration d'exhaustivité

Rappelons la définition d'une extraction exhaustive : « Extraction en plusieurs étapes réalisée pour que la quantité de matériau extraite retrouvée dans une étape d'extraction ultérieure représente moins de 10 % de celle détectée, par analyse gravimétrique (ou par tout autre moyen), lors de l'étape d'extraction initiale »

La démonstration consiste donc à réaliser une extraction en plusieurs étapes et à peser (si la méthode gravimétrique est utilisée) les résidus non volatiles (NVR) à chaque étape (voir figure 2).

Il y a malheureusement 2 interprétations de la définition ci-dessus, ce qui se traduit par des pratiques différentes selon les laboratoires. La première interprétation considère que, si $M_n < 10\%$ (M1), on est exhaustif à l'étape (n), tandis que la seconde considère que l'on est exhaustif à l'étape (n-1). Bien que l'on ne puisse pas nier que la définition de l'ISO 10993-18 est ambiguë, la seconde interprétation est à mon avis la plus proche du texte de la norme. En effet, quand la norme parle d'étape « ultérieure » (l'étape n), c'est bien par rapport à celle que l'on considère exhaustive (l'étape n-1).

L'atteinte de l'exhaustivité en une ou plusieurs étapes va jouer sur l'AET. En effet, si par exemple, 2 étapes sont nécessaires, alors le volume d'extraction global est multiplié par 2, ce qui divise l'AET par 2 (et l'on ne le sait malheureusement qu'après avoir fait la démonstration d'exhaustivité). Certains laboratoires, peut-être pour éviter cet inconvénient, ne renouvellent pas le volume entre chaque étape pour l'extraction avant analyse : cette pratique est critiquable car l'on s'éloigne alors des conditions validées et elle est souvent challengée par la FDA ou certains organismes notifiés. On voit donc :

- que l'on a tout intérêt à arriver à démontrer que l'on est exhaustif dès la première étape : avoir des temps d'extraction pour chaque étape relativement long (par exemple 72h par étape) peut y aider.
- qu'adopter la première interprétation de l'exhaustivité (i.e. étape exhaustive = n-1) favorise la validation de l'exhaustivité en 1 étape (il suffit pour cela que la seconde soit $< 10\%$ de M1 ou $< LOD$ de la balance) et évite donc les phénomènes de dilution.

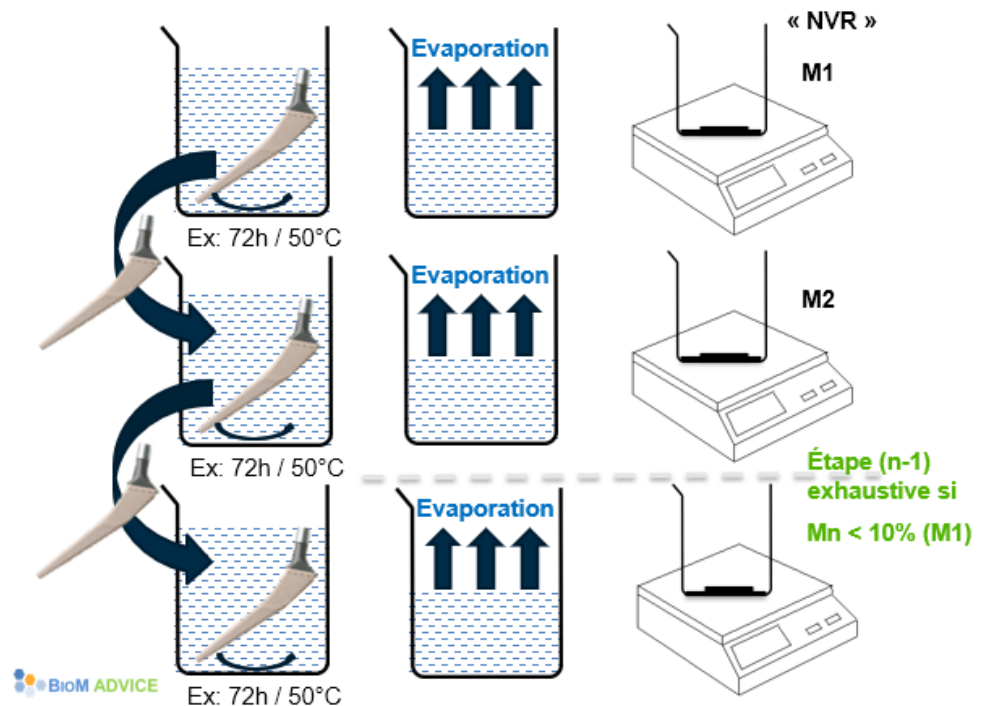


Figure 2 : Démonstration de l'exhaustivité par la méthode gravimétrique

Conclusion

Définir les conditions d'extraction avant caractérisation chimique est une tâche plus difficile qu'il n'y paraît. Elle nécessite entre autres :

- la connaissance des conditions d'utilisation du DM,
- des connaissances précises des normes ISO 10993-12 et ISO 10993-18,
- des connaissances en physique des matériaux pour évaluer la compatibilité des solvants et températures d'extraction avec les matériaux du DM,
- des connaissances en chimie pour choisir des solvants aptes à extraire les substances du DM, et
- des connaissances en toxicologie pour le calcul de l'AET.

Il est important que les conditions d'extraction soient définies avec soin avant la caractérisation chimique pour éviter de mauvaises surprises une fois l'essai terminé (DM dégradé, LOD ou LOQ supérieure à l'AET, ou question bloquante des organismes réglementaires...).

BioM ADVICE peut vous aider à réaliser les différentes étapes de la démarche d'évaluation biologique

- ✓ Analyse de votre process, définition des familles de produits et de leurs produits représentatifs



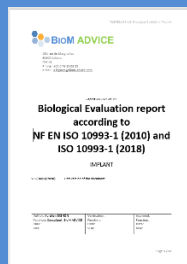
- ✓ Mise en relation avec les laboratoires de caractérisation chimique, établissement des protocoles et suivi des essais



- ✓ Interprétation des résultats d'analyse chimique (TRA) selon l'ISO 10993-17



- ✓ Établissement du dossier d'évaluation biologique (BER) selon l'ISO 10993-1



- ✓ Formation sur l'évaluation biologique

