



Institut de radiophysique

COURS DE RADIOPHARMACIE

Les contrôles qualités des préparations (kits) en radiopharmacie

CHUV
Institut de radiophysique
Rue du Grand-Pré 1
CH – 1007 **Lausanne**
<http://www.chuv.ch/ira>

Sommaire

Chapitre • 1	6
Introduction	6
1. Introduction	6
2. Pourquoi réaliser des contrôles qualité en radiopharmacie ?	6
Chapitre • 2	7
Règlementation	7
1. Directive L-10-06 : Exigences relatives à la préparation de produits radiopharmaceutiques	7
2. Pharmacopées	8
3. Information professionnelle	8
4. Autres textes réglementaires utiles en radiopharmacie	8
4.1. Textes relatifs aux médicaments	8
4.2. Textes relatifs à la radioprotection	8
Chapitre • 3	9
Les différents types de contrôles qualités	9
1. Contrôles physiques	9
1.1. Identification de l'isotope	9
1.2. Pureté radionucléidique (PRN)	9
1.3. Activité de la source	9
1.4. Concentration radioactive	9
1.5. Radioactivité spécifique	10
2. Contrôles chimiques	10
2.1. Pureté radiochimique (PRC)	10
2.2. Pureté chimique	10
2.3. pH	11
2.4. Isotonicité	11
3. Contrôles biologiques	11
3.1. Stérilité	11
3.2. Apyrogénicité	11
4. Contrôles galéniques	12
4.1. Caractères organoleptiques	12
4.2. Forme galénique	12
5. Récapitulatif	13
Chapitre • 4	15
Les contrôles qualité en pratique	15
1. Médicaments prêts à l'emploi	15
2. Préparation (kit)	15
2.1. Pourquoi mesurer la PRC ?	16
2.2. Mesure	16
2.3. Réalisation de la chromatographie	17
2.4. Problématiques des composants non-marqués	22
3. Contrôle du générateur	23
3.1. Dois-je utiliser le premier éluat de mon générateur ?	23
3.2. Spécifications d'un éluat	23
4. Conclusion	24
5. Résumé	24
Bibliographie	25

CHAPITRE • 1

INTRODUCTION

Objectifs

- *Connaître les différents types de produits utilisés en radiopharmacie*
 - *Comprendre l'objectif de la réalisation des CQ*
-

1. Introduction

La radiopharmacie est définie par l'utilisation de sources radioactives non scellées pour la préparation de médicaments radiopharmaceutiques (MRP) pour la médecine nucléaire.

Swissmedic définit les produits radiopharmaceutiques comme « des médicaments qui contiennent des radionucléides dont les rayonnements sont utilisés à des fins diagnostiques ou thérapeutiques » [1].

En suisse, on peut considérer que 3 types de médicaments radiopharmaceutiques sont utilisés :

- **les MRP prêts à l'emploi** (ex : Datscan[®]), autorisés sur le territoire suisse ou importés dans le cadre d'une autorisation spéciale délivrée par Swissmedic ;
- **les préparations** (kits, ou trousse) qui sont autorisés sur le territoire suisse (ex : Nanocoll[®]) ou importés dans le cadre d'une autorisation spéciale délivrée par Swissmedic ;
- **les fabrications ou synthèses** qui utilisent des produits non enregistrés sur le territoire Suisse et régies par une autorisation de fabrication délivrée par Swissmedic (« formules » selon l'art. 9, par. 2 LPTh, par exemple « formule magistrale »).

2. Pourquoi réaliser des contrôles qualité en radiopharmacie ?

Les contrôles qualité réalisés en radiopharmacie permettent de garantir la qualité du produit injecté au patient. Dans cet objectif, les contrôles à effectuer varient en fonction du type de MRP utilisé. Par exemple, pour les produits prêts à l'emploi, la qualité du produit est garantie par le fournisseur. L'objectif du contrôle est donc de vérifier que le fournisseur ait envoyé le bon produit et que les informations fournies soient correctes. On vérifiera par exemple le numéro de lot, la date d'expiration et l'activité.

Pour les préparations, l'objectif est de vérifier que le radiomarquage se soit bien déroulé. On vérifiera par exemple la pureté radiochimique et également le pH (si demandé).

CHAPITRE • 2

REGLEMENTATION

Objectifs

- *Connaître les différents textes relatifs aux contrôles qualités*
 - *Savoir retrouver les informations nécessaires à la réalisation des contrôles qualités*
-

1. Directive L-10-06 : Exigences relatives à la préparation de produits radiopharmaceutiques

La directive ne concerne que les produits enregistrés sur le territoire suisse, c'est-à-dire les MRP prêts à l'emploi et les préparations (kits). Un paragraphe est dédié aux contrôles qualités.

Reprenons chacun des points de la directive L-10-06 [2] en les expliquant :

1. « Chaque MRP doit faire l'objet d'instructions relatives à la préparation et au contrôle de qualité. Ces instructions comprennent l'information professionnelle autorisée et, éventuellement, des instructions supplémentaires internes à l'entreprise » [2].
 - ➔ *Cela signifie que le fournisseur doit décrire dans la notice de son produit comment réaliser la préparation et le contrôle qualité. Ces informations peuvent être complétées par des consignes en interne.*
2. « Le contrôle de qualité doit être effectué conformément à l'information professionnelle ou à la Pharmacopée » [2]
 - ➔ *Seules les modalités de préparation et de contrôles qualités proposées dans l'information professionnelle (ce point sera détaillé plus loin) et la pharmacopée sont validées. Les centres n'ayant pas d'autorisation de fabrication Swissmedic doivent s'y conformer.*
 - ➔ *Les centres ayant une autorisation de fabrication Swissmedic peuvent utiliser une autre méthode. Cette méthode doit être validée et doit fournir des résultats au moins équivalents à la méthode officielle.*
3. « Il faut définir un système d'assurance-qualité et désigner les personnes responsables de la qualité des MRP. Celles-ci sont chargées de contrôler le processus de marquage et de libérer le produit en vue de l'application prévue »
4. « La libération de chaque préparation est fondée sur le procès-verbal de ladite préparation, avec le résultat du contrôle de qualité afférent. »
 - ➔ *La libération d'une préparation doit être matérialisée par écrit. Elle doit mentionner les résultats obtenus lors de la réalisation du contrôle.*

2. Pharmacopées

Il y a 2 types de Pharmacopée valables en Suisse :

- la pharmacopée Européenne ;
- la pharmacopée Suisse (Pharmacopea Helvetica).

3. Information professionnelle

Il s'agit de l'information qui se trouve dans la boîte contenant le produit. Elle est également appelée : RCP (Résumés des caractéristiques du produit) ou SPC (Summary of Product Characteristics). L'information professionnelle contient toutes les informations relatives au marquage du produit, à sa conservation avant et après le marquage, la méthode pour réaliser le contrôle qualité ainsi que les exigences pour libérer le produit.

On peut également les retrouver :

- sur le site Swissmedic : <http://www.swissmedicinfo.ch/default.aspx> ;
- sur le Compendium suisse des médicaments : <https://compendium.ch/home/fr> ;
- sur le site du vendeur.



Il faut toujours s'assurer que la version sur laquelle on s'appuie soit la dernière version.

4. Autres textes réglementaires utiles en radiopharmacie

4.1. Textes relatifs aux médicaments

- Ordonnance sur les autorisations dans le domaine des médicaments, OAMéd. (RS 812.212.1)
- Ordonnance sur les autorisations dans le domaine des médicaments, OAMéd. (RS 812.212.1).
- Loi sur les produits de santé (LPTh) (812.21)
- Guide to Good Practice for the Preparation of Medicinal Products in Healthcare Establishments PE 010-4.
- PICS GMP Guides: <https://www.picscheme.org>
- Guidelines on current Good Radiopharmacy Practice in the Production of Radiopharmaceuticals; European Association of Nuclear Medicine.
- EU Guidelines to Good Manufacturing Practice; Medicinal Products for Human and Veterinary Use, Annex 1: Manufacture of Sterile Medicinal Products (25-11-2008), http://ec.europa.eu/health/files/eudralex/vol-4/2008_11_25_gmp-an1_en.pdf.
- Monographies de la Pharmacopée Européen

4.2. Textes relatifs à la radioprotection

- Directive L-06-01. Dosimétrie lors de l'utilisation de sources radioactives non scellées.
- Ordonnance du DFI sur la dosimétrie individuelle et la dosimétrie de l'environnement (Ordonnance sur la dosimétrie). 814.501.43
- Ordonnance sur la radioprotection (ORaP) 814.501

CHAPITRE • 3

LES DIFFERENTS TYPES DE CONTROLES QUALITES

Objectifs

- *Connaître les différents types de contrôles qualités existants et leur(s) objectif(s)*
-

1. Contrôles physiques

L'objectif des contrôles physiques est de mettre en évidence une erreur d'isotope ou la présence d'éventuelle(s) impureté(s) radioactive(s), ce qui engendrerait dans le premier cas la nécessité de refaire l'examen et dans le second cas une irradiation anormalement élevée du patient et des images de moins bonne qualité.

1.1. Identification de l'isotope

La période physique est caractéristique de l'élément. L'isotope peut être identifié en établissant la courbe de décroissance et en calculant la demi-vie de l'isotope. L'isotope peut également être identifié par son énergie et son rayonnement, par exemple par spectrométrie gamma.

1.2. Pureté radionucléidique (PRN)

La pureté radionucléidique ou PRN est définie dans la Pharmacopée Européenne [3] comme le rapport de la radioactivité du radionucléide considéré à la radioactivité totale de la source en pourcentage. Il s'agit par exemple du dosage du Molybdène dans les éluats de Technétium.

1.3. Activité de la source

L'activité est le nombre de désintégrations ou transformations nucléaires se produisant par unité de temps. Elle est exprimée en becquerel (Bq), ce qui correspond à une transformation par seconde. L'activité est mesurée à l'aide d'un activimètre étalonné et régulièrement contrôlé. La mesure d'une activité est toujours liée à une date et une heure.

Règlementations relatives aux activimètres et CQ des activimètres

- OFSP. Directive L-09-01 : Assurance qualité des activimètre.
- Ordonnance du DFJP sur les instruments de mesure des rayonnements ionisants, OIMRI (941.210.5)

1.4. Concentration radioactive

La concentration radioactive est la radioactivité d'un nucléide rapportée à l'unité de volume de la solution. Elle est exprimée en Bq/l.

1.5. Radioactivité spécifique

La radioactivité spécifique est la radioactivité d'un nucléide rapportée à l'unité de masse de l'élément ou de la forme chimique considérée (Bq/kg ou Bq/mol).

L'activité spécifique est un facteur clé devant être déterminé pour les explorations fonctionnelles visant à quantifier des sites récepteurs, des transporteurs, des enzymes.

2. Contrôles chimiques

2.1. Pureté radiochimique (PRC)

La pureté radiochimique ou PRC est définie par la Pharmacopée Européenne comme, pour « un radionucléide donné, le rapport, exprimé en pourcentage, entre la radioactivité attribuable à la forme chimique indiquée et la radioactivité totale attribuable à ce radionucléide dans la préparation radiopharmaceutique. La liste des impuretés radiochimiques potentielles à considérer est donnée dans chaque monographie spécifique, avec les limites correspondantes » [3].

Il s'agit de la fraction d'un radionucléide donné présent sous la forme chimique attendue par rapport à l'activité totale de ce même radionucléide dans la source.

Elle est calculée de la façon suivante :

$$\text{PRC (\%)} = \frac{\text{Activité due à l'isotope sous la forme chimique attendue}}{\text{Activité totale due à l'isotope dans la source}} \times 100$$

Par exemple, dans le cas des trousseaux marqués avec du technétium, il s'agit notamment de rechercher le pertechnétate libre (TcO_4^-) et le technétium réduit hydrolysé (Tc-R , TcO_2).

Pour bien comprendre le calcul, on peut écrire la formule sous cette forme :

$$\text{PRC (\%)} = \frac{\text{MRP}}{\text{MRP} + \text{TcO}_4^{2-}(\text{non complexé}) + \text{TcO}_4^- + \text{TcO}_2} \times 100$$

Médicament radiomarqué (TcO_4^{2-} complexé)

Activité totale de la source.

Il est important de mesurer la pureté radiochimique, car lorsque le radionucléide n'est pas sous la forme chimique attendue, il peut avoir un comportement biologique différent de celui du MRP. Cela peut entraîner une irradiation non désirée du patient et des images de mauvaise qualité.

Par exemple, l'ion pertechnétate libre (TcO_4^-) va se fixer sur la thyroïde, l'estomac et les glandes salivaires et le technétium réduit hydrolysé (TcO_2) dans le foie et la rate. C'est les 2 principales espèces recherchées pour les trousseaux technétiées.

2.2. Pureté chimique

La pureté chimique est le rapport, exprimé en pourcentage, de la masse de matière présente sous la forme chimique indiquée à la masse totale de matière contenue dans la source.

Il s'agit par exemple de la quantification de l'aluminium dans les éluats de technétium. L'aluminium est recherché car il est toxique, il peut altérer la qualité des préparations et modifier la biodistribution du MRP. Pour effectuer ce contrôle, des kits rapides sont disponibles, par exemple le kit Aluminium Breakthrough Kit du laboratoire Biodex[®]. Ce dernier propose de déposer une goutte d'éluat sur un papier indicateur ce qui provoque une réaction colorée. En parallèle, un standard contenant la concentration limite en aluminium est également déposé. Le résultat est lu par comparaison de la coloration des 2 gouttes.

2.3. pH

Pour chaque MRP, il existe un intervalle de pH à l'intérieur duquel la stabilité et le marquage sont optimaux. La mesure du pH est réalisée facilement et rapidement en mettant une goutte de radiopharmaceutique sur du papier pH et en lisant immédiatement le résultat.

Ce test n'est pas toujours obligatoire ; cependant, il est simple et facile à réaliser. Il peut permettre de détecter des inversions de produit (les trousse(s) n'ont pas toutes le même pH), de détecter d'éventuelle(s) trousse(s) non conforme(s), et dans certains cas il permet de mettre en évidence l'oubli de réactif(s).

Par exemple, dans le cas du Ceretec[®], lorsque la solution de cobalt a été introduite le pH de la solution se situe entre 5.0 et 8.0 et la solution est de couleur jaune paille pâle. Le produit non stabilisé (avant l'introduction de la solution de cobalt) a un pH compris entre 9.0 et 9.8.

2.4. Isotonicité

Une solution est isotonique lorsqu'elle possède la même pression osmotique que le sang.

Physiologiquement, l'eau contenue dans un milieu va toujours diluer le milieu le plus concentré. Si un liquide hypertonique est injecté en intraveineuse, l'eau des tissus environnant va migrer dans le compartiment plasmatique créant une déshydratation des milieux environnants. Si le liquide est hypotonique, l'eau va quitter le milieu plasmatique pour aller dans les tissus environnants créant ainsi des œdèmes. Ce test n'est pas réalisé par l'utilisateur dans la pratique courante.

3. Contrôles biologiques

3.1. Stérilité

Une solution injectable doit impérativement être stérile. Réaliser le contrôle de stérilité avant l'injection pour les MRP est impossible compte tenu de la demi-vie du produit.

La stérilité est garantie par le fournisseur pour les trousse(s) et les MRP prêts à l'emploi jusqu'à « effraction » du produit. La stérilité du MRP est garantie par la validation du processus de préparation et des opérateurs (Media Fill tests), la rigueur de la manipulation et la qualité de l'environnement : maîtrise de l'environnement (classe A), contrôles environnementaux (prélèvements de surface et d'air, comptages particulaires).

3.2. Apyrogénicité

Un produit apyrogène est un produit qui ne donne pas de fièvre. Le test consiste à mettre en évidence les éventuelles endotoxines bactériennes. Ces dernières sont des substances chimiques issues de la membrane externe des bactéries gram négatif. Il s'agit de lipopolysaccharides qui peuvent être libérés lors de la mort et de la décomposition de la bactérie par exemple sous l'effet de la stérilisation.

Les endotoxines, lorsqu'elles sont injectées, peuvent provoquer une réaction toxique chez l'homme (inflammation, nausées...) voire un choc anaphylactique dans le pire des cas. Le test de

référence pour les endotoxines est le test LAL (Lysat d'Amoebocytes de Limule) [3] qui consiste en la formation d'un gel lors de la mise en contact du lysat avec des endotoxines. Ce test n'est pas très pratique à réaliser, il y a beaucoup de faux positifs et de faux négatifs. Il est peu réalisé dans la pratique. D'autres systèmes ont été mis en place pour détecter les endotoxines, cependant le test LAL reste la référence.

L'apyrogénicité est garantie par le fournisseur pour les trousse et les MRP prêts à l'emploi jusqu'à « effraction » du produit.

4. Contrôles galéniques

4.1. Caractères organoleptiques

Les contrôles organoleptiques regroupent la couleur, l'aspect, la présence anormale de particules, etc. Les produits injectables doivent être limpides, sans particule. La simple observation de la préparation permet de mettre en évidence la présence de particules dans la solution, par exemple des bouts de polymères provenant du carottage (perçage) du bouchon.

Ils peuvent également donner des indications sur le marquage du produit. Par exemple, le Ceretec[®] est une solution incolore. Lorsqu'il est stabilisé avec le cobalt, il prend une teinte jaune pâle paille. Le Ceretec[®] expire au bout de 30 minutes, le Ceretec[®] stabilisé (Cerestab[®]) expire au bout de 5 heures.

En radiopharmacie, l'observation de la solution peut être difficile compte tenu du matériel de radioprotection employé. Lorsque ce contrôle est instauré dans la pratique de tous les jours, il faut avoir conscience qu'il expose l'opérateur aux rayonnements et que des mesures de radioprotection doivent être prises (ex : observation derrière un écran plombé, manipulation à l'aide de pinces, etc.).

4.2. Forme galénique

Différentes formes pharmaceutiques sont utilisées en radiopharmacie.

Par exemple, des nanocolloïdes sont utilisés pour réaliser les radiosynoviorthèses, une suspension pour les Sirsphères et Terasphères, et enfin des macroaggrégats d'albumine humaine pour l'exploration pulmonaire. Pour ce dernier, la taille des macroaggrégats présents dans la solution conditionne directement la qualité de l'examen.

5. Récapitulatif

Tableau 1. Tableau récapitulatif des différents contrôles qualités réalisés en radiopharmacie.

Types de contrôle	Tests à réaliser
Contrôles physique	Identification de l'isotope
	Pureté radionucléidique (PRN)
	Activité de la source
	Concentration radioactive
	Radioactivité spécifique
Contrôles chimiques	Pureté radiochimique (PRC)
	Pureté chimique
	pH
	Isotonicité
Contrôles biologiques	Stérilité
	Apyrogénicité
Contrôles galéniques	Caractères organoleptiques
	Forme galénique

Récapitulatif des **contrôles à réaliser en routine** dans les centres de médecine nucléaire:

Tableau 2. Les CQ réalisés en pratique en médecine nucléaire.

Types de produits	Contrôles	Garanti par le fournisseur
Préparation kit	pH (si demandé dans SPC) Caractères organoleptiques (contrôle visuel) Activité Pureté radiochimique (PRC)	Sur la trousse uniquement : Stérilité, apyrogénicité Pureté chimique
MRP prêt à l'emploi	Informations fournisseur Caractères organoleptiques Identification de l'isotope Activité	Identification de l'isotope Stérilité, apyrogénicité Pureté radionucléidique Pureté chimique
Eluat du générateur	Caractères organoleptiques pH (si demandé dans SPC) Activité Rendement d'élution Teneur en aluminium (si demandé dans SPC)* Pureté radionucléide (PRN, ex. molybdène)	Stérilité, apyrogénicité

(* Egalement réalisé par le fournisseur)

NB :

- *Ce tableau est à moduler en fonction des produits que vous utilisez. Les contrôles qualités obligatoires sont donnés dans le SPC de chacun des produits que vous utilisez.*
- *Les contrôles qualités en gras sont ceux qu'il nous semble important de réaliser pour chaque produit.*
- *La vérification des caractères organoleptiques et la mesure du pH entraîne l'irradiation de l'opérateur. Une réflexion basée sur le rapport bénéfice/risque de ces contrôles doit être réalisée.*
- *La stérilité et l'apyrogénicité de la trousse sont garanties par le fournisseur. Ce dernier ne garantit pas ces paramètres pour la préparation finale. C'est pourquoi la formation des opérateurs, la validation du processus et des opérateurs, la maîtrise de l'environnement de préparation (nettoyages et contrôles réguliers) sont primordiaux en radiopharmacie.*

CHAPITRE • 4

LES CONTROLES QUALITE EN PRATIQUE

Objectifs

- *Savoir pour chaque type de MRP que vous employez quels sont les contrôles à effectuer*
-

Nous allons considérer dans ce chapitre les contrôles à effectuer pour les produits utilisés dans vos services.

Pour les médicaments prêts à l'emploi, le contrôle consiste à vérifier les informations du fournisseur.

Pour les préparations, les contrôles suivants peuvent être réalisés :

- concernant le radioélément : identification et activité ;
- concernant le MRP : caractéristiques organoleptiques, pH, activité et pureté radiochimique.

1. Médicaments prêts à l'emploi

La vérification consiste à vérifier que le produit livré correspond bien au bon de livraison et au bon de commande.

On vérifiera donc :

- la spécialité ;
- le numéro de lot ;
- la date d'expiration ;
- l'activité théorique notée sur le produit et sur le bon de livraison.

On réalisera également une mesure de l'activité. Par convention, une déviation de maximum 10% par rapport à l'activité à calibration est acceptée.

2. Préparation (kit)

Dans le cas d'une préparation, une trousse fournie par le fournisseur est marquée dans le service avec un éluat de Tc-99m ou un radioisotope fournit par le fournisseur.

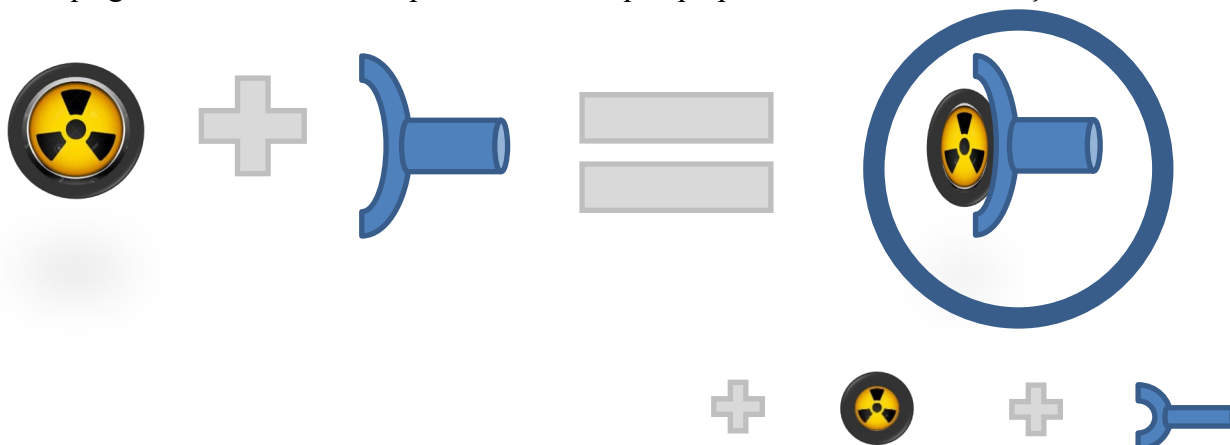
Les trusses doivent être contrôlées au moment de leur réception : la concordance entre ce qui a été reçu, les informations sur le bordereau et ce qui a été commandé doit être contrôlée : spécialité, n° de lot, date de péremption doivent être vérifiés.

Lors du contrôle d'une préparation marquée, l'objectif est de contrôler si le bon produit a été marqué, si le marquage s'est bien déroulé et si les informations de traçabilité sont correctes.

On peut contrôler les caractères organoleptiques de la préparation : couleur, aspect, limpidité et présence de particules, et également le pH et la pureté radiochimique (PRC).

2.1. Pourquoi mesurer la PRC ?

Le marquage d'une trousse est un processus chimique qui peut être illustré de la façon suivante :



Une molécule est marquée avec un radio-isotope pour obtenir le MRP. La trousse contient tous les composants non radioactifs nécessaires à la formation du MRP avec un bon rendement de marquage. C'est-à-dire qu'elle contient la molécule vectrice (peptides, anticorps, etc) et d'autres substances qui permettent que le marquage se déroule correctement : réducteurs (chlorure stanneux), antioxydant (acide ascorbique/gentisique), tampon, agent chélateur, solubilisant et agent de lyophilisation. A la fin du marquage, nous obtenons le médicament radiopharmaceutique (molécule vectrice + radio-isotope), mais également l'isotope libre car non complexé et la molécule vectrice libre. La détermination de la pureté radiochimique lors du contrôle qualité permet de déterminer la proportion de chaque espèce dans la préparation finale et de vérifier que le marquage s'est déroulé correctement.

2.2. Mesure

La pureté radiochimique peut être déterminée par HPLC ou par chromatographie solide-liquide. Seule cette dernière sera abordée dans ce cours.

La chromatographie solide-liquide consiste à séparer les constituants d'une préparation en fonction de leur affinité soit pour la phase mobile soit pour la phase stationnaire. Elle se déroule en 2 phases :

- la réalisation de la chromatographie ;
- la lecture des résultats ; 2 méthodes existent : méthode coupe-ciseaux avec lecture avec un activimètre et lecture avec un compteur linéaire (ou TLC Scanner).

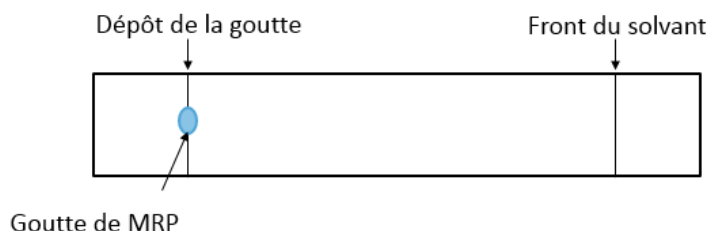
2.3. Réalisation de la chromatographie

➤ Etape 1 : Conditionnement de la cuve

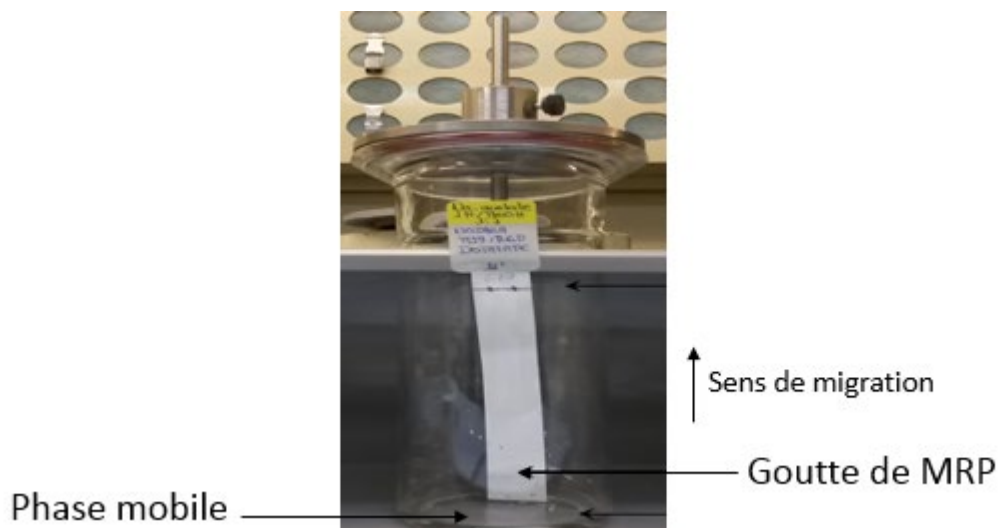
- Mettre environ 0.5 cm de hauteur de solvant
- Fermer la cuve
- Laisser reposer environ 15 minutes

➤ Etape 2 : Elution

- Prendre le papier adéquat (en accord avec le SPC)
- Derrière un écran de protection plombé, déposer une goutte de préparation au niveau de la ligne de dépôt



- Laisser sécher ou non (selon les informations du SPC)
- Introduire le support dans la cuve – ligne de dépôt vers le bas
- La ligne de dépôt ne doit pas tremper dans la phase mobile
- Laisser migrer



Lors de ce contrôle, vous manipulez des produits chimiques et des produits radioactifs, portez toujours des gants, utilisez une pince pour manipuler les plaques de chromatographie et un écran plombé.

➤ Etape 3 : Lecture

La lecture de la plaque de chromatographie peut être réalisée grâce à un scanner linéaire ou par la méthode coupe-ciseaux.

Méthode de lecture avec un scanner linéaire (TLC scanner)

La plaque de chromatographie est placée sur un plateau mobile. Ensuite, elle est lue sur toute la longueur par la tête du compteur qui en donne le spectre.



Figure 1. Lecture de la plaque de chromatographie.

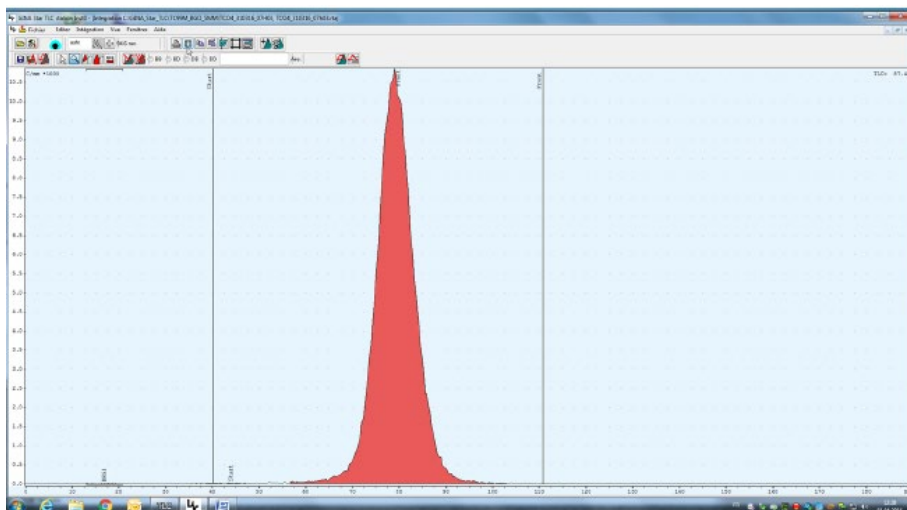


Figure 2. Spectre obtenue par lecture d'une plaque chromatographique pour la mesure de la pureté radiochimique avec un lecteur linéaire (TLC scanner).

Pour exploiter ces résultats, il suffit de sélectionner la zone où l'activité due aux les impuretés apparaît et celle où l'activité due au MRP est tracée. Le scanner calcule automatiquement le pourcentage d'impureté :

$$\text{PRC (\%)} = \frac{\text{Activité du pic correspondant au MRP}}{\text{Activité totale déposée sur la plaque de chromatographie}} \times 100$$

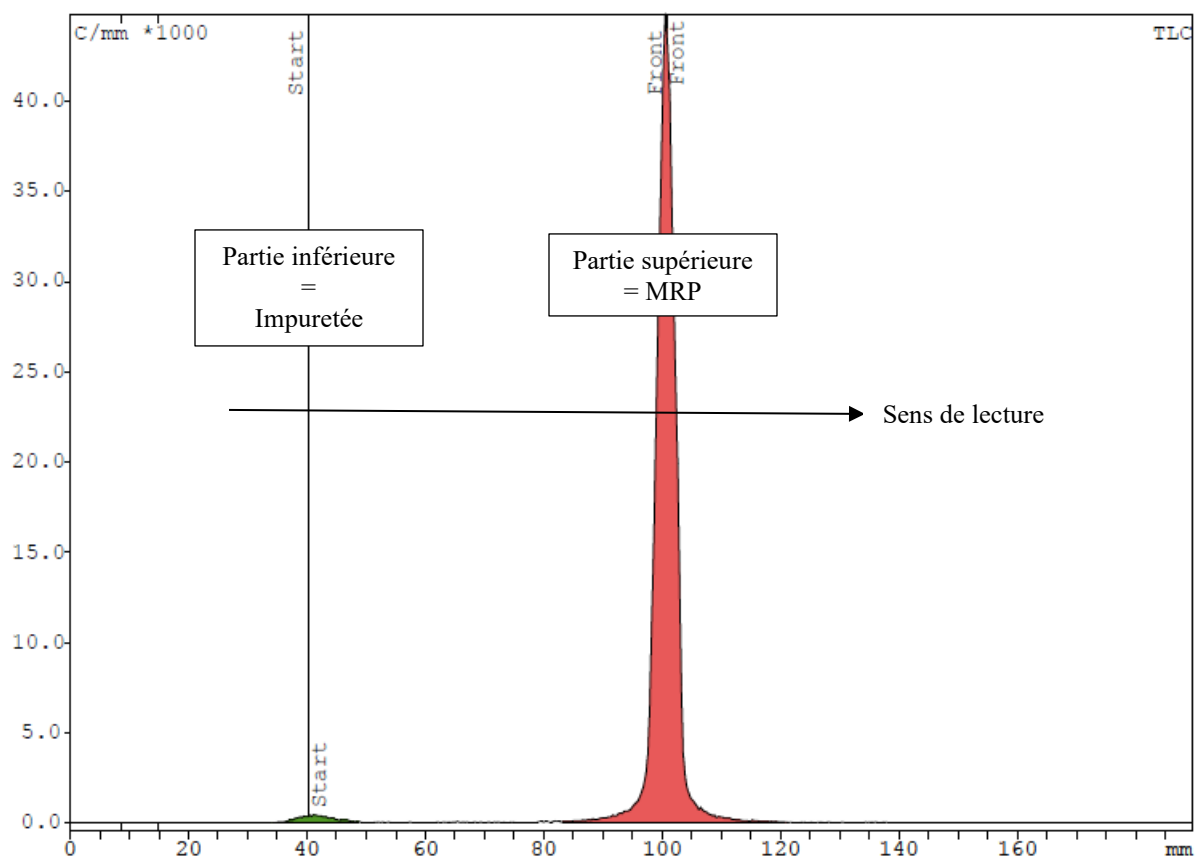
Exemple du Technescan® Sestamibi :

Information du SPC [6] :

$$\% \text{ de technétium } [^{99m}\text{Tc}] \text{ sestamibi} = \frac{\text{Activité de la partie supérieure}}{\text{Activité des deux parties}} \times 100$$

Remarque :

La pureté radiochimique du technétium [^{99m}Tc] sestamibi doit être $\geq 94\%$. Si la pureté radiochimique est inférieure à 94% , le technétium [^{99m}Tc] sestamibi ne doit pas être injecté et la préparation doit être éliminée [6].



Intégration TLC

Substance	T/R mm	R/F	Début mm	Fin mm	Can	%Total %	Type	Aire Counts	%Aire %
Start	41.83	0.027	34.19	48.80	TLC	1.73	DD(-	2965.9	1.75
Front	100.58	0.995	83.32	120.83	TLC	96.81	DD(-	166435.8	98.25

$$PRC(\%) = \frac{98.25}{98.25+1.75} \times 100 = 98.25\%$$

PRC $\geq 94\%$ → Le produit est conforme

Méthode de lecture « coupe ciseaux »

Cette méthode propose de lire les résultats à l'aide d'un activimètre. Dans ce cas, après la migration, la plaque est coupée en accord avec les indications du SPC (en 2 pour la plupart des MRP et en 3 pour le Myoview) puis chaque partie est mesurée à l'activimètre. La pureté radiochimique est ensuite calculée manuellement :

$$\text{PRC (\%)} = \frac{\text{Activité du morceau contenant le MRP}}{\text{Somme de l'activité des portions de la plaque}} \times 100$$



Pour chacune des plaques mesurées, il est important d'avoir bien repéré les endroits auxquels migrent les impuretés et le MRP. Afin d'éviter les erreurs, il peut également être intéressant de mettre un repère sur la plaque pour en repérer le haut et le bas.

Pour certains MRP, il peut être nécessaire de réaliser plusieurs chromatographies (ex : DTPA)

2.3.1. Exemple du Nanocoll[®]

Extrait du SPC [7] :

Contrôle de la qualité

La qualité du marquage est déterminée par chromatographie ascendante sur couche mince (Varian SA TLC) :

Support: Varian SA TLC (2 bandelettes de 12 cm; déposer une petite goutte de la préparation à 2,5 cm de l'extrémité inférieure).

Solvant: méthanol:eau, 85:15 v/v.

Durée: 25 à 30 minutes (à environ 7 cm de l'origine; retirer la bandelette de la cuve et la faire sécher).

^{99m}Tc (nanocolloïde): ≥95%.

Rf: 0,0 à 0,1.

Réalisation de la chromatographie

1. Verser le mélange 85:15 méthanol:eau jusqu'à 1 cm au-dessus du fond de la cuve pour chromatographie; couvrir la cuve pour permettre à la vapeur du solvant de se répartir de façon régulière.
2. Marquer un repère au crayon à 3 cm de l'extrémité inférieure d'une bandelette ITLC/SG, et un autre repère à l'encre à 15 cm au-dessus de cette ligne. Le trait au crayon indique le point où l'échantillon doit être appliqué. L'encre se met à migrer lorsque la phase mobile a atteint la ligne de couleur, indiquant la nécessité de stopper l'élution.
3. A 12 cm au-dessus du premier trait au crayon (Rf 0,8), marquer un repère supplémentaire au crayon (ligne de découpe).
4. Avec une seringue de 1 ml munie d'une aiguille, appliquer un échantillon de 10–20 µl de la solution injectable prête à l'emploi sur le premier trait au crayon. Ne pas laisser sécher le dépôt, mais placer immédiatement la bandelette dans la cuve à chromatographie et couvrir celle-ci. La bandelette ne doit en aucun point entrer en contact avec les parois de la cuve.
- Remarque: 10–20 µl d'échantillon devraient donner un point de 7 à 10 mm de diamètre. Les échantillons de moindre volume donnent des résultats peu fiables concernant la pureté radiochimique.
5. Dès que le front du solvant a atteint le trait à l'encre, retirer la bandelette de la cuve et la laisser sécher.
6. Découper la bandelette à la position de découpe marquée au crayon et mesurer la radioactivité de chacune des deux parties au moyen d'un appareil de comptage adéquat. Le comptage pour les deux parties devrait être effectué en l'espace d'un minimum de temps et dans des conditions aussi similaires que possible. Le pertechnétate [^{99m}Tc] libre et d'autres complexes hydrophiles de technétium migrent (Rf 0,8 à 1,0).
7. Calculer la qualité du marquage au moyen de la formule suivante:

% Pureté radiochimique = $\frac{\text{activité partie inférieure}}{\text{activité partie inférieure} + \text{supérieure}} \times 100$.

La pureté radiochimique doit être de ≥95%.

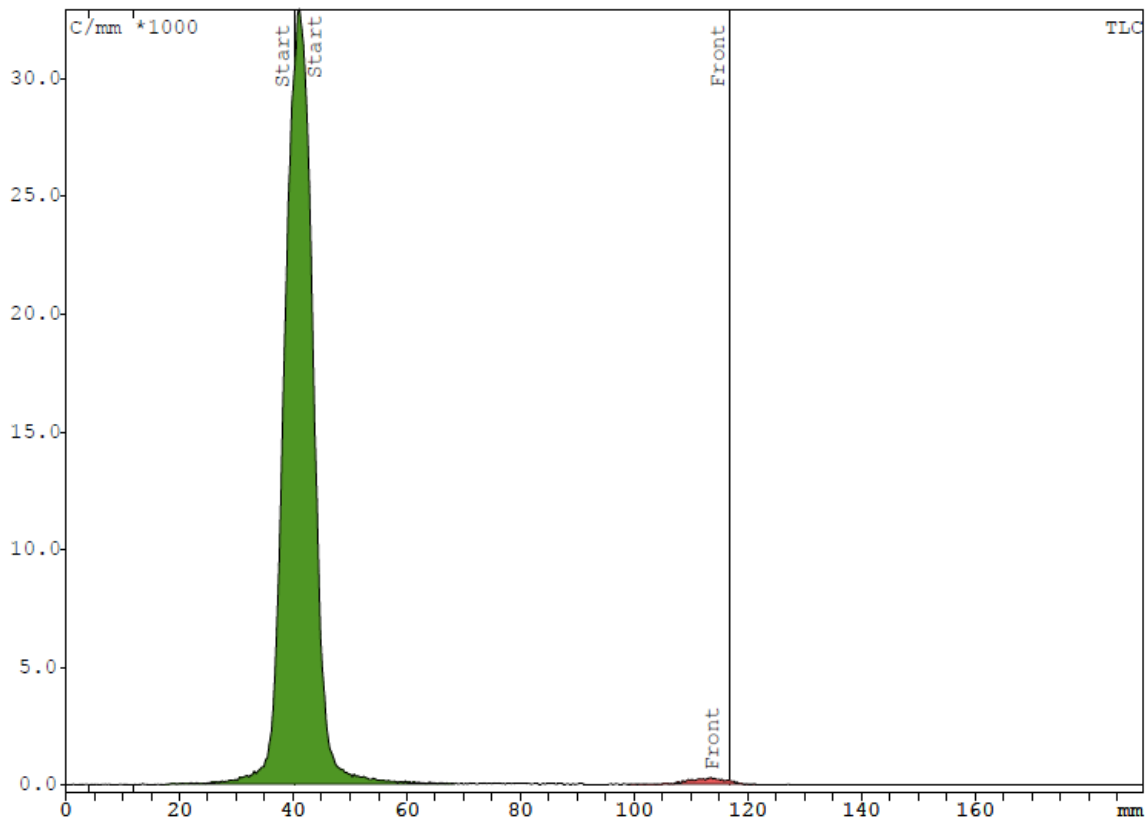
Les solutions présentant une qualité de marquage inférieure à 95% ne doivent pas être utilisées.

**Méthode de
Contrôle
Qualité**

Calcul de la PRC

Exigences

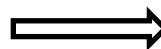
Lecture avec un lecteur linéaire :



Intégration TLC

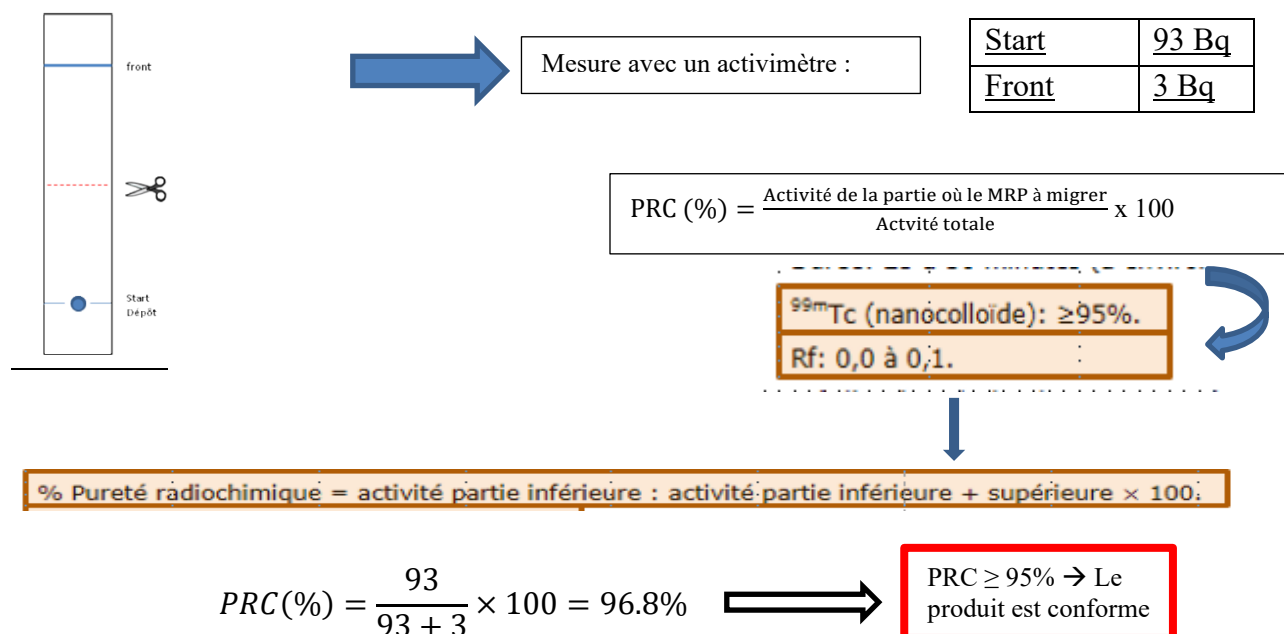
Substance	T/R mm	R/F	Début mm	Fin mm	Can	%Total %	Type	Aire Counts	%Aire %
Start	41.16	0.013	17.59	68.38	TLC	96.88	DD(190933.4	98.94
Front	113.53	0.957	98.92	121.49	TLC	1.04	DD(2046.8	1.06

$$PRC(\%) = \frac{98.94}{98.94 + 1.06} \times 100 = 98.94\%$$



PRC ≥ 95% → Le produit est conforme

Lecture par méthode « coupe-ciseaux » :



2.4. Problématiques des composants non-marqués

Dans la plupart des cas, les trousse sont marquées avec du Tc-99m. Dans l'éluat du générateur, le Tc-99m est sous la forme de pertechnétate de sodium. Cette espèce n'a pas de propriétés complexantes, elle doit être réduite afin de pouvoir être complexée par la molécule vectrice contenue dans la trousse. Les trousse commercialisées contiennent du chlorure stanneux qui va réduire l'ion pertechnétate en ion technétate qui va être complexé avec la molécule vectrice.

A la fin de cette réaction, nous obtenons alors le MRP radiomarké mais également le MRP non radiomarké et l'isotope non complexé.

L'isotope non complexé peut alors se réoxyder en pertechnétate libre qui va s'accumuler au niveau de l'estomac, de la thyroïde et des glandes salivaires, ou il peut se réduire en TcO₂ qui va s'accumuler dans le foie et la rate. Ces 2 espèces sont responsables d'une irradiation inutile pour le patient et peuvent gêner la qualité de l'image. Le MRP non radiomarké entre en compétition avec l'isotope marqué et peut être responsable d'anomalies visibles sur les images et d'une augmentation du BDF. La mesure de la PRC réalisée vise à mettre en évidence des taux anormaux de ces espèces.

Les trousse industrielles sont conçues afin de garantir un bon marquage du MRP. Cependant, la procédure de marquage donnée dans le SPC doit être scrupuleusement respectée.

3. Contrôle du générateur

3.1. Dois-je utiliser le premier éluat de mon générateur ?

Pour le marquage de certain MRP, les fournisseurs exigent que l'éluat provienne d'un générateur dont la dernière élution date de moins de 24 heures. Vous pouvez trouver cette information dans la rubrique préparation du SPC. Certains fournisseurs éluent les générateurs avant de les envoyer à leur client. Dans ces cas-là, le premier éluat du générateur peut être utilisé pour marquer les MRP.

Nous attirons également votre attention sur le fait qu'il est également important de vérifier les dates des livraisons auprès des fournisseurs pour les situations particulières d'approvisionnement (jours fériés et congés annuels).

3.2. Specifications d'un éluat

Exemple: Dans le RCP du générateur Ultratechnekow[®] pris en guise d'exemple [8], les spécifications de l'éluat sont données :

Spécifications

Spécifications de l'eluante

^{99m}Tc -pertechnétate comme solution claire, incolore, stérile, isotonique (quantité d'activité dépendante du temps d'elution et de l'activité nominale du nuclide mère ⁹⁹Mo).

pH: 5,0 – 7,0

Teneur ⁹⁹Mo: normalement < 25 Bq/MBq ^{99m}Tc

Aluminium: < 20 µg/ml

Substances oxydante: aucune

On peut donc réaliser les contrôles qualités suivant :

- caractères organoleptiques
- pH
- mesure du taux de molybdène dans l'éluat (pureté radionucléidique).
- test limite d'aluminium (pureté chimique)

Extrait du RCP [8] :

Les éluats qui ne sont pas parfaitement limpides et incolores ne doivent pas être utilisés, et doivent être jetés!

Les contrôles obligatoires sont donc les contrôles organoleptiques (contrôle visuel).

Dans la pratique courante, le test de la teneur en molybdène et le test d'aluminium sont souvent réalisés sur le 1^{er} éluat du générateur.

Le rendement d'élution du générateur fournit également des informations sur la qualité du générateur. Le rendement est même calculé automatiquement par certains logiciels de radiopharmacie.

4. Conclusion

Un marquage radiopharmaceutique est dépendant de nombreux paramètres : activité, activité spécifique, modalités d'agitation, température et durée de chauffage doivent être respectées pour garantir le succès du marquage d'où l'importance de réaliser les contrôles qualités des préparations radiopharmaceutiques pour garantir la qualité des produits injectés au patient.

Cependant, ils ne doivent pas occulter les autres paramètres permettant de garantir la qualité des produits :

- conditions aseptiques : maîtrise de l'environnement, contrôles des locaux et des flux laminaires, qualité du travail aseptique (validation du processus et de l'opérateur par Media Fill tests + contrôle de préparations ponctuelles) ;
- contrôle des instruments de mesures : activimètre (CQ quotidien, hebdomadaire, linéarité, intercomparaison) et compteur linéaire (linéarité et CQ hebdomadaire).



Les règles de radioprotection doivent être suivies durant la réalisation des contrôles qualités.

5. Résumé

- *Nous avons abordé dans ce cours les différents types de contrôles des MRP réalisés dans la pratique courante.*
 - *L'objectif de chaque contrôle est une notion importante pour rationaliser la réalisation des contrôles qualités en radiopharmacie*
 - *Il ne faut pas perdre de vue que le CQ : mesure de la PRC et éventuellement mesure du pH (non obligatoire) permet de contrôler que le marquage s'est bien passé mais qu'il n'est pas seul garant de la qualité du produit. Par exemple, il ne permet pas de juger de la stérilité du produit. En cas de doute sur la stérilité (erreur de manipulation ou problème de maîtrise de l'environnement), une réflexion doit être menée sur les risques encourus par le patient en cas d'injection.*
 - *De même, un contrôle qualité correct ne doit pas être un moyen de donner l'autorisation d'injecter des produits périmés.*
-

BIBLIOGRAPHIE

- [1] Swissmedic. HD-Guide complémentaire. Autorisation produit radiopharmaceutique ».
- [2] Office fédéral de la santé OFSP. Directive L-10-06 : Exigences relatives à la préparation de produits radiopharmaceutiques.
- [3] Pharmacopée Européenne. 5.19. Préparation extemporanée de produits radiopharmaceutiques. Edition 8.7, 2016.
- [4] Dossier du CNHIM. Médicaments radio-pharmaceutiques : utilisation pratique. 1998, XIX, 5-6.
- [5] Galy. G., Fraysse. M. Radiopharmacie et médicaments radiopharmaceutiques. 07/2012.
- [6] Information professionnelle Technescan[®] Sestamibi. Mai 2014.
- [7] Information professionnelle Nanocoll[®]. Avril 2018.
- [8] Information professionnelle Ultratechnekow[®]. Novembre 2004.