



HAL
open science

Contrôles de pureté radiochimique des préparations radiopharmaceutiques technétiées

Charlotte Julien

► **To cite this version:**

Charlotte Julien. Contrôles de pureté radiochimique des préparations radiopharmaceutiques technétiées. Sciences pharmaceutiques. 2022. dumas-03923181

HAL Id: dumas-03923181

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-03923181v1>

Submitted on 4 Jan 2023

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Distributed under a Creative Commons Attribution - NonCommercial - NoDerivatives 4.0 International License

MÉMOIRE DU DIPLÔME D'ÉTUDES SPECIALISÉES
DE PHARMACIE HOSPITALIERE –PRATIQUE ET RECHERCHE

Soutenu le 13 décembre 2022

Par Docteur Charlotte JULIEN

Née le 17 juillet 1991 à Avignon (Vaucluse)

----oOo----

**Contrôles de pureté radiochimique
des préparations radiopharmaceutiques technétiées**

----oOo----

JURY :

Président : Monsieur le Professeur Benjamin GUILLET

Directeur de thèse : Madame le Docteur Chahrazad MOUBARIK

Membres : Madame le Professeur Sophie LANCELOT

Madame le Docteur Faïza FAFI-NEMRA

27 Boulevard Jean Moulin – 13385 MARSEILLE Cedex 05
Tel. : 04 91 83 55 00 – Fax : 04 91 80 26 12

ADMINISTRATION :

<i>Doyen :</i>	Mme Françoise DIGNAT-GEORGE
<i>Vice-Doyens :</i>	M. Jean-Paul BORG, M. François DEVRED, M. Pascal RATHELOT
<i>Chargés de Mission :</i>	Mme Pascale BARBIER, Mme Alexandrine BERTAUD, M. David BERGE-LEFRANC, Mme Manon CARRE, Mme Caroline DUCROS, M. Philippe GARRIGUE, M. Guillaume HACHE, M. Thierry TERME
<i>Conseiller du Doyen :</i>	M. Patrice VANELLE
<i>Doyens honoraires :</i>	M. Patrice VANELLE, M. Pierre TIMON-DAVID,
<i>Professeurs émérites :</i>	M. José SAMPOL, M. Athanassios ILIADIS, M. Philippe CHARPIOT, M. Riad ELIAS
<i>Professeurs honoraires :</i>	M. Guy BALANSARD, M. Yves BARRA, Mme Claudette BRIAND, M. Jacques CATALIN, Mme Andrée CREMIEUX, M. Gérard DUMENIL, M. Alain DURAND, Mme Danielle GARÇON, M. Maurice JALFRE, M. Joseph JOACHIM, M. Maurice LANZA, M. Patrick REGLI, M. Jean-Claude SARI
<i>Chef des Services Administratifs :</i>	Mme Chloé SIMON
<i>Chef de Cabinet :</i>	Mme Aurélie BELENGUER
<i>Responsable de la Scolarité :</i>	Mme Nathalie BESNARD

DEPARTEMENT BIO-INGENIERIE PHARMACEUTIQUE

Responsable : Professeur Philippe PICCERELLE

PROFESSEURS

BIOPHYSIQUE	M. Vincent PEYROT M. Hervé KOVACIC M. François DEVRED
GENIE GENETIQUE ET BIOINGENIERIE	M. Christophe DUBOIS
PHARMACIE GALENIQUE, PHARMACOTECHNIE INDUSTRIELLE, BIOPHARMACIE ET COSMETOLOGIE	M. Philippe PICCERELLE

MAITRES DE CONFERENCES

BIOPHYSIQUE	Mme Odile RIMET-GASPARINI Mme Pascale BARBIER Mme Manon CARRE M. Gilles BREUZARD Mme Alessandra PAGANO
GENIE GENETIQUE ET BIOTECHNOLOGIE	M. Eric SEREE-PACHA Mme Véronique REY-BOURGAREL
PHARMACIE GALENIQUE, PHARMACOTECHNIE INDUSTRIELLE, BIOPHARMACIE ET COSMETOLOGIE	M. Pierre REBOUILLON M. Emmanuel CAUTURE Mme Véronique ANDRIEU Mme Marie-Pierre SAVELLI
BIO-INGENIERIE PHARMACEUTIQUE ET BIOTHERAPIES PHARMACO ECONOMIE, E-SANTE	M. Jérémy MAGALON Mme Carole SIANI Mme Muriel MASI

ENSEIGNANT CDI

ANGLAIS	Mme Angélique GOODWIN
---------	-----------------------

A.H.U.

PHARMACOTECHNIE	Mme Mélanie VELIER
-----------------	--------------------

DEPARTEMENT BIOLOGIE PHARMACEUTIQUE
Responsable : Professeur Françoise DIGNAT-GEORGE

PROFESSEURS

BIOLOGIE CELLULAIRE	M. Jean-Paul BORG
HEMATOLOGIE ET IMMUNOLOGIE	Mme Françoise DIGNAT-GEORGE Mme Laurence CAMOIN-JAU Mme Florence SABATIER-MALATERRE Mme Nathalie BARDIN M. Romaric LACROIX
MICROBIOLOGIE	M. Jean-Marc ROLAIN M. Philippe COLSON
PARASITOLOGIE ET MYCOLOGIE MEDICALE, HYGIENE ET ZOOLOGIE	Mme Nadine AZAS-KREDER

MAITRES DE CONFERENCES

BIOCHIMIE FONDAMENTALE, MOLECULAIRE ET CLINIQUE	M. Edouard LAMY Mme Alexandrine BERTAUD Mme Claire CERINI Mme Edwige TELLIER M. Stéphane POITEVIN Mme Sandra GHAYAD
HEMATOLOGIE ET IMMUNOLOGIE	Mme Aurélie LEROYER Mme Sylvie COINTE
MICROBIOLOGIE	Mme Anne DAVIN-REGLI Mme Véronique ROUX M. Fadi BITTAR Mme Isabelle PAGNIER Mme Sophie EDOUARD M. Seydina Mouhamadou DIENE
PARASITOLOGIE ET MYCOLOGIE MEDICALE, HYGIENE ET ZOOLOGIE	Mme Carole DI GIORGIO M. Aurélien DUMETRE Mme Magali CASANOVA Mme Anita COHEN
BIOLOGIE CELLULAIRE BIOLOGIE CELLULAIRE ET MOLECULAIRE	Mme Anne-Catherine LOUHMEAU Mme Alexandra WALTON

A.H.U.

HEMATOLOGIE ET IMMUNOLOGIE	Mme Amandine BONIFAY
----------------------------	----------------------

MAITRES DE CONFERENCE ASSOCIES A TEMPS PARTIEL (M.A.S.T.)

PRATIQUE OFFICINALE	Mme Emmanuelle TONNEAU-PFUG
---------------------	-----------------------------

DEPARTEMENT CHIMIE PHARMACEUTIQUE

Responsable : Professeur Patrice VANELLE

PROFESSEURS

CHIMIE ANALYTIQUE, QUALITOLOGIE ET NUTRITION	Mme Catherine BADENS
CHIMIE PHYSIQUE – PREVENTION DES RISQUES ET NUISANCES TECHNOLOGIQUES	M. David BERGE-LEFRANC
CHIMIE THERAPEUTIQUE - CHIMIE MINERALE ET STRUCTURALE	M. Pascal RATHELOT M. Maxime CROZET
CHIMIE ORGANIQUE PHARMACEUTIQUE	M. Patrice VANELLE M. Thierry TERME

MAITRES DE CONFERENCES

BOTANIQUE ET CRYPTOGAMIE, BIOLOGIE CELLULAIRE	Mme Anne FAVEL M. Quentin ALBERT
CHIMIE ANALYTIQUE, QUALITOLOGIE ET NUTRITION	Mme Catherine DEFOORT M. Alain NICOLAY Mme Estelle WOLFF Mme Elise LOMBARD Mme Camille DESGROUAS M. Charles DESMARCHELIER M. Mathieu CERINO
CHIMIE PHYSIQUE - PREVENTION DES RISQUES ET NUISANCES TECHNOLOGIQUES	M. Dujé BURIC M. Pascal PRINDERRE
CHIMIE THERAPEUTIQUE - CHIMIE MINERALE ET STRUCTURALE	Mme Sandrine ALIBERT Mme Caroline DUCROS M. Marc MONTANA Mme Manon ROCHE Mme Fanny MATHIAS
CHIMIE ORGANIQUE PHARMACEUTIQUE HYDROLOGIE	M. Armand GELLIS M. Christophe CURTI Mme Julie BROGGI M. Nicolas PRIMAS M. Cédric SPITZ M. Sébastien REDON
PHARMACOGNOSIE, ETHNOPHARMACOLOGIE	Mme Valérie MAHIOU-LEDDÉ Mme Sok Siya BUN Mme Béatrice BAGHDIKIAN M. Elnur GARAYEV

MAITRES DE CONFERENCE ASSOCIES A TEMPS PARTIEL (M.A.S.T.)

CHIMIE ANALYTIQUE, QUALITOLOGIE ET NUTRITION CHIMIE PHYSIQUE - PREVENTION DES RISQUES ET NUISANCES TECHNOLOGIQUES	M. Cyril PUJOL
DROIT ET ETHIQUE	Mme Laurie PAHUS
GESTION PHARMACEUTIQUE, PHARMACOECONOMIE ET ETHIQUE PHARMACEUTIQUE OFFICINALE, DROIT ET COMMUNICATION PHARMACEUTIQUES A L'OFFICINE ET GESTION DE LA PHARMAFAC	Mme Félicia FERRERA
DISPOSITIFS MEDICAUX	Mme Valerie MINETTI-GUIDONI

DEPARTEMENT MEDICAMENT ET SECURITE SANITAIRE

Responsable : Professeur Benjamin GUILLET

PROFESSEURS

PHARMACIE CLINIQUE	M. Stéphane HONORÉ
PHARMACODYNAMIE	M. Benjamin GUILLET
TOXICOLOGIE ET PHARMACOCINETIQUE	M. Bruno LACARELLE M. Joseph CICCOLINI
TOXICOLOGIE GENERALE	Mme Caroline SOLAS-CHESNEAU

MAITRES DE CONFERENCES

PHARMACIE CLINIQUE	M. Florian CORREARD Mme Marie-Anne ESTEVE
PHARMACODYNAMIE	M. Guillaume HACHE Mme Ahlem BOUHLEL M. Philippe GARRIGUE
PHYSIOLOGIE	Mme Sylviane LORTET
TOXICOLOGIE ET PHARMACOCINETIQUE	Mme Raphaëlle FANCIULLINO Mme Florence GATTACECCA Mme Anne RODALLEC M. Nicolas FABRESSE
TOXICOLOGIE GENERALE	M. Pierre-Henri VILLARD

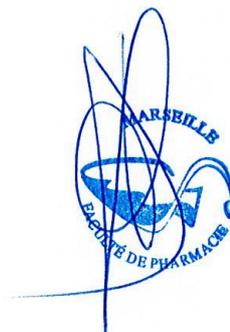
A.H.U.

PHYSIOLOGIE / PHARMACOLOGIE	Mme Anaïs MOYON M. Vincent NAIL
-----------------------------	------------------------------------

CHARGES D'ENSEIGNEMENT A LA FACULTE

Mme Valérie AMIRAT-COMBRALIER, Pharmacien-Praticien hospitalier
M. Pierre BERTAULT-PERES, Pharmacien-Praticien hospitalier
Mme Marie-Hélène BERTOCCHIO, Pharmacien-Praticien hospitalier
Mme Martine BUES-CHARBIT, Pharmacien-Praticien hospitalier
M. Nicolas COSTE, Pharmacien-Praticien hospitalier
Mme Sophie GENSOLLEN, Pharmacien-Praticien hospitalier
M. Sylvain GONNET, Pharmacien titulaire
Mme Florence LEANDRO, Pharmacien adjoint
M. Stéphane PICHON, Pharmacien titulaire
M. Patrick REGGIO, Pharmacien conseil, DRSM de l'Assurance Maladie
Mme Clémence TABELLE, Pharmacien-Praticien attaché
M. Badr Eddine TEHHANI, Pharmacien – Praticien hospitalier
M. Joël VELLOZZI, Expert-Comptable

Mise à jour le 13 décembre 2021



**LE DOYEN
F. DIGNAT-GEORGE**

REMERCIEMENTS

A Monsieur le Professeur Benjamin Guillet,

Merci de m'avoir fait l'honneur de présider mon jury de thèse et d'avoir évalué ce travail. Soyez assuré de mon respect et de ma reconnaissance.

A Madame le Docteur Chahrazad Moubarik,

Je te remercie pour ta proposition de sujet et ton encadrement sans faille. Tout au long de ce travail, tu as su m'aiguiller malgré la distance. Je te suis extrêmement reconnaissante du temps que tu m'as accordé, de tes nombreux conseils et de ton implication active dans ce travail. Merci également pour tes encouragements, ta positivité et ton soutien.

A Madame le Professeur Sophie Lancelot,

Vous me faites l'honneur d'évaluer ce travail et de participer à mon jury. Je vous remercie de l'attention que vous avez bien voulu donner à mon travail. Soyez assuré de mon respect le plus profond et de ma reconnaissance.

A Madame le Docteur Faïza Nemra,

Je te remercie d'évaluer ce manuscrit et de participer à mon jury. Cela est un plaisir que tu puisses juger ce travail qui continuera à travers les réunions du groupe de travail.

Aux membres du groupe de travail CQ de la SoFRa,

Je vous remercie pour votre implication et votre écoute active, je remercie plus particulièrement les relecteurs de dernières minutes qui ont apporté des remarques constructives à ce travail.

Aux pharmaciens qui m'ont encadré durant mon assistanat, à toute l'équipe de la pharmacie de l'Hôpital d'Instruction Sainte Anne,

Je remercie toutes les personnes qui ont bien voulu m'accorder de leurs temps pour ma formation hospitalière.

A mes co-internes,

Un grand merci à toutes les futures consœurs et confrères, que j'ai pu croiser durant ce long cursus de formation. Vos conseils et discussions en tout genre m'ont été bénéfiques et m'ont permis certaines évasions. Un grand merci en particulier, à Sarah, pour tous ces conseils avisés de mentor.

A mes amis

Un grand merci à toutes les personnes qui me sont chères, mes amies d'enfance, mes terreurs du lycée, mes potos adulescents et mes copines débrouillardes de la Boate et toutes les nouvelles rencontres faites dans le sud.

A ma famille,

A vous deux, papa et maman, vous avez su me donner toutes les chances pour réussir. Sans vous je n'en serais pas là. Je vous en serai éternellement reconnaissante. A ma petite sœur Marion et le chouchou Sandrou, merci pour votre soutien.

A Maxime et notre Louise,

Merci pour ton soutien dans tous ces moments, pour ta patience et ta bienveillance. Merci de toujours m'encourager et d'avoir pris le relais quand ça devenait nécessaire. Merci d'être là, d'être toi, tout simplement.

« L'Université n'entend donner aucune approbation, ni improbation aux opinions émises dans les thèses. Ces opinions doivent être considérées comme propres à leurs auteurs. »

SOMMAIRE

SOMMAIRE	11
LISTE DES ABREVIATIONS	14
LISTE DES FIGURES ET ILLUSTRATIONS.....	15
INTRODUCTION	19
PARTIE 1 : Préparations radiopharmaceutiques technétiées	20
1. Réglementation	20
1.1 Médecine nucléaire et radiopharmacie	20
1.2 Ressources.....	20
1.3 Locaux.....	21
1.4 Contrôles de qualité	21
2. Impuretés	23
2.1 Impuretés recherchées dans un éluat de ^{99m} Tc.....	23
2.1.1 Principe de l'obtention d'un éluat.....	23
2.1.2 Pureté radionucléidique	24
2.1.3 Activité spécifique ou l'impureté ⁹⁹ Tc stable.....	24
2.1.4 Pureté chimique ou taux d'aluminium	25
2.1.5 Pureté radiochimique ou recherche de ^{99m} Tc réduit.....	25
2.2 Impuretés recherchées après un radiomarquage	26
2.2.1 Principe du radiomarquage	26
2.2.2 Pureté radiochimique.....	29
2.2.3 Les 2 principales impuretés.....	30
2.2.4 Complexes technétiés secondaires	32
3. Techniques existantes pour le CQ de la PRC	40
3.1 Chromatographie liquide haute performance (CLHP).....	40
3.2 Extraction liquide-solide.....	41
3.3 Chromatographie sur couche mince (CCM)	42

PARTIE 2 : Pureté radiochimique des PRP technétiées par chromatographie sur couche mince	48
1. Référentiels	48
2. Facteurs pouvant influencer les résultats des CCM	49
2.1 Phase stationnaire	49
2.2 Phase mobile	52
2.3 Mode opératoire	53
3. Facteurs limitant l'utilisation des méthodes RCP	56
3.1 Manque de matériel	56
3.2 Temps	56
3.3 Utilisation de solvants toxiques	57
3.4 Impuretés non détectées par la méthode RCP	58
3.5 Variabilités intra et interindividuelles	58
4. Méthodes alternatives	59
4.1 Traceurs rénaux	60
4.2 Traceurs biliaires	62
4.3 Traceurs osseux	62
4.4 Traceurs cardiaques	63
4.5 Traceurs pulmonaires	66
4.6 Traceurs cérébraux	66
PARTIE 3 : Utilisation en routine de méthodes alternatives	68
1. Sélection d'une méthode alternative	68
1.1 Contexte : recherche de critères pertinents	68
1.2 Matériel et méthode : évaluation des critères pertinents	69
1.3 Résultats et discussion : proposition d'un score et outil comparatif	70
2. Validation de méthodes radioanalytiques	73
2.1 Contexte	73
2.2 Matériel et méthode	74
2.3 Résultats et discussion : proposition d'une méthodologie	75

2.3.1 Spécificité	75
2.3.2 Linéarité, intervalle et limite de quantification (LQ)	78
2.3.3 Répétabilité	79
2.3.4 Fidélité intermédiaire	80
2.3.5 Robustesse.....	80
2.3.6 Justesse.....	81
CONCLUSION ET PERSPECTIVES	83
BIBLIOGRAPHIE.....	84
Annexe I.....	92

LISTE DES ABREVIATIONS

AMM : Autorisation de mise sur le marché
ASN : Autorité de sûreté nucléaire
BPP : Bonnes pratiques de préparation
CCM : Chromatographie sur couche mince
CHU : Centre hospitalier universitaire
CLCC : Centre de lutte contre le cancer
CLHP : Chromatographie liquide haute performance
CNIHM : Centre national hospitalier d'information sur le médicament
CQ : Contrôle de qualité
CSP : Code de la santé publique
CV : Coefficient de variation
DMSA : Acide dimercaptosuccinique
EANM : *European association of nuclear medicine*
ITLC : *Instant Thin Layer Chromatography*
ITLC-SG : Support en fibre de verre imprégné d'un adsorbant en gel de silice
ITLC-SA : Support en fibre de verre imprégné d'acide silique
LQ : Limite de quantification
MEK : Méthyléthylcétone
MERM : Manipulateur d'électroradiologie médicale
MRP : Médicament radiopharmaceutique
PE : Pharmacopée européenne
PPH : Préparateur en pharmacie hospitalière
PRC : Pureté radiochimique
PRP : Préparation radiopharmaceutique
PUI : Pharmacie à usage intérieure
RCP : Résumé des caractéristiques du produit
Rf : Facteur de rétention
RSD : *Relative standard deviation*
SoFRa : Société française de radiopharmacie
^{99m}Tc : Technétium métastable
TcO₄⁻ : Per technétate de sodium
TcR : Technétium réduit et hydrolysé
TEMP : Tomographie par émission monophotonique
Tr : Temps de rétention

LISTE DES FIGURES ET ILLUSTRATIONS

FIGURES

Figure 1 : schéma de désintégration $^{99}\text{Mo}/^{99\text{m}}\text{Tc}$

Figure 2 : principe de radiomarquage

Figure 3 : état d'oxydation du TcO_4^- requis pour complexation (17)

Figure 4 : exemples de complexes de $^{99\text{m}}\text{Tc}$ utilisés en TEMP (21)

Figure 5 : comparaison des radiochromatogrammes obtenus par la méthode (Whatman 31/acétate d'éthyle et séchage du dépôt) sans chauffage (gauche) et avec chauffage (droite) lors du radiomarquage du Stamicis® - $R_f(\text{TcO}_4^-)=0$; $R_f(\text{TcR})=0$; $R_f(^{99\text{m}}\text{Tc-sestamibi})=0.5$

Figure 6 : biodistribution altérée de la scintigraphie osseuse causée par des impuretés radiochimiques,

Figure 7 : structure du $^{99\text{m}}\text{Tc(III)}\text{-DMSA}$ et $^{99\text{m}}\text{Tc(V)}\text{-DMSA}$ (36)

Figure 8 : scintigraphies obtenues à partir de l'injection de $^{99\text{m}}\text{Tc(V)}\text{-DMSA}$

Figure 9 : exemple de chromatogramme obtenu avec la méthode de la PE

Figure 10 : fixation hépatique causée par $^{99\text{m}}\text{Tc-MAG3}$ lipophile et mise en évidence de la surestimation de la PRC avec le système chromatographique A versus le système B (42)

Figure 11 : structure chimique des formes méso-HMPAO et d,l-HMPAO (9)

Figure 12 : biodistribution du $^{99\text{m}}\text{Tc-Sn-gluconate}$ (46)

Figure 13 : méthode CCM pour identification du $^{99\text{m}}\text{Tc-gluconate}$ (47)

Figure 14 : mise en évidence du $^{99\text{m}}\text{Tc-gluconate}$

Figure 15 : comparaison des radiochromatogrammes obtenus à partir d'un même échantillon avec la méthode de Patel (droite) et la méthode du RCP Stamicis® (gauche)

Figure 16 : étude de corrélation entre la fixation cardiaque et les valeurs de PRC obtenues par la méthode RCP (gauche) et la méthode alternative de Patel (droite)

Figure 17 : influence de la nature de l'éluat sur la captation cardiaque du Sestamibi®

Figure 18 : système chromatographique triple pour l'évaluation de la PRC du $^{99\text{m}}\text{Tc-HYNIC/TOC}$ et leur R_f (56)

Figure 19 : chromatographes obtenus pour l'évaluation de la PRC du $^{99\text{m}}\text{Tc-HYNIC/TOC}$ (57)

Figure 20 : comparaison d'une méthode alternative (gauche) permettant de mettre en évidence le glucose technétié dans un échantillon de NanoHSA® versus la méthode de référence (droite)

Figure 21 : mise en évidence du $^{99\text{m}}\text{Tc-pyrophosphate}$ avec une méthode alternative (gauche) versus la méthode RCP (droite)

Figure 22 : réponse au sondage concernant l'équipement à disposition des services de radiopharmacie

Figure 23 : illustration du fabricant Mallinckrodt® pour la détermination de la PRC

Figure 24 : schéma d'un système de chromatographie sur couche mince

Figure 25 : tableau de miscibilité des solvants (66)

Figure 26 : classification des solvants par groupe de sélectivité, toxicité et force d'éluion (67)

Figure 27 : proposition d'un diagramme de choix de solvants pour CCM

Figure 28 : influence de la phase mobile (68)

Figure 29 : principe du radiochromatographe (69)

Figure 30 : évaluation de la PRC par gamma caméra

Figure 31 : exemple d'évaluation de PRC d'un complexe qui reste au dépôt par découpe de la phase stationnaire et mesure de la radioactivité

Figure 32 : exemple de radiochromatogrammes obtenus avec un même solvant sur des supports différents

Figure 33 : exemple de radiochromatogrammes de Nanocis® obtenus avec le support ITLC-SA avec un dépôt sur la face « lisse » (gauche) (PRC= 96.9) versus l'autre face (PRC = 99.8) (droite)

Figure 34 : exemple de radiochromatogrammes obtenus avec la trousse Osteocis®

Figure 35 : exemple de radiochromatogrammes obtenus avec l'éluat

Figure 36 : illustration de la séparation des pigments jaune et bleu d'un colorant vert obtenus par CCM avec un mélange éthanol/NaCl 0.9% (80 :20) dont la séparation est plus franche avec le papier Whatman 1 CHR®

Figure 37 : influence de la concentration d'un solvant, le NaCl à 0.9% ne permet pas une bonne séparation des pigments jaune et bleu du colorant vert en comparaison avec le NaCl à 10%

Figure 38 : influence du temps d'évaporation de la phase mobile sur les résultats de PRC du Nephromag®

Figure 39: radiochromatogrammes obtenus selon la distance de migration

Figure 40 : radiochromatogrammes obtenus selon le temps de migration

Figure 41 : influence de la taille de la goutte

Figure 42 : exemple de radiochromatogrammes obtenus d'un éluat sur papier Whatman 31ET dans l'acétate d'éthyle avec 60 secondes de séchage (gauche) et sans séchage (droite)

Figure 43 : influence de l'éluat sur le radiomarquage et comparaison des méthodes de PRC

Figure 44 : résultats obtenus par deux opérateurs en appliquant la méthode RCP du Myoview®

Figure 45 : Répartition des trousse pour lesquelles une méthode alternative est appliquée parmi les services n'utilisant pas systématiquement la méthode RCP selon notre sondage

Figure 46 : migration similaire des formes ^{99m}Tc(III)-DMSA (gauche) et ^{99m}Tc(V)-DMSA (droite) selon la méthode RCP

Figure 47 : migration distincte des deux formes de DMSA selon une méthode alternative (82)

Figure 48 : présentation de l'outil comparatif

Figure 49 : résultats de notre sondage sur la méthodologie appliquée pour la validation de méthodes alternatives

Figure 50 : textes de référence traitant de la préparation et de la validation de méthodes analytiques pour les préparations radiopharmaceutiques

Figure 51 : recommandations ICH adaptées aux MRP (105)

Figure 52 : radiochromatogrammes obtenus avec la méthode par CCM sur papier Whatman 17CHR et NaCl à 0.9% d'une préparation de ^{99m}Tc -pyrophosphate (gauche) et d'une préparation d'éluat mise en contact avec du chlorure d'étain (droite)

Figure 53 : radiochromatogrammes obtenus à partir des 3 échantillons

Figure 54 : radiochromatogrammes obtenus à partir d'un mélange du complexe et de TcR

TABLEAUX

Tableau 1 : nombre de particules par organe après injection sur des rats (31)

Tableau 2 : liste de différents guides relatifs aux contrôles de qualité

Tableau 3 : quelques équivalences de phases stationnaires (72,73)

Tableau 4 : solubilité, polarité et indice d'évaporation des solvants selon les fiches de l'INRS

Tableau 5 : toxicité des différents solvants utilisés en CCM selon les fiches INRS/FDS

Tableau 6 : exemples de méthodes alternatives proposées dans la littérature

Tableau 7 : exemple de méthode alternative proposée dans la littérature

Tableau 8 : exemple d'une méthode alternative proposée dans la littérature

Tableau 9 : exemples de méthodes alternatives proposées dans la littérature

Tableau 10 : méthodes alternatives proposées dans la littérature pour la tétréfosphine

Tableau 11 : méthodes alternatives proposées dans la littérature pour le sestamibi

Tableau 12 : méthodes alternatives proposées dans la littérature pour les trousse à base d'examétazime

Tableau 13 : résultats de notre sondage sur les critères importants d'une méthode de PRC

Tableau 14 : résultats de notre sondage sur les causes entraînant le développement d'une méthode alternative

Tableau 15 : détails du score proposé

INTRODUCTION

Les préparations radiopharmaceutiques sont réalisées sous la responsabilité du radiopharmacien qui au regard du dossier de lot, libère ces dernières avant administration au patient. La libération des lots est conditionnée par un ensemble de critères dont la conformité des contrôles de qualité (CQ). Les modalités de ces contrôles sont laissées à l'appréciation du radiopharmacien qui s'appuie sur les mentions du résumé de caractéristiques des produits (RCP) des trousseuses utilisées, les monographies de la Pharmacopée européenne (PE) ou les recommandations de sociétés savantes. Notre travail s'intéresse aux contrôles de pureté radiochimique (PRC) des préparations à base de trousseuses radiomarquées au technetium métastable (^{99m}Tc). Certaines méthodes de contrôle de qualité proposées par les fabricants semblent être peu adaptées à une application en routine. Dans une première partie, nous rappellerons le contexte réglementaire autour des préparations radiopharmaceutiques (PRP) et leurs contrôles de qualité. Nous ferons un état des lieux des impuretés issues du radiomarquage au technetium et des techniques utilisées pour leurs mises en évidence. Dans une deuxième partie, nous aborderons plus précisément la chromatographie sur couche mince. La consultation des nombreux référentiels et articles sur le sujet nous a permis de proposer quelques conseils et bonnes pratiques. Nous nous sommes également intéressés aux pratiques exercées au sein des services de radiopharmacie. Un sondage portant sur les contrôles de qualité de pureté radiochimique a été mené en avril 2022 auprès des radiopharmaciens par le biais de la société française de radiopharmacie (SoFRa). Nous avons recueilli l'ensemble des éléments pouvant limiter la mise en application des méthodes RCP proposées par les fabricants. Une revue de la littérature a été réalisée sur les méthodes alternatives concernant les trousseuses dont la méthode de PRC était controversée. Dans une troisième partie, nous proposons l'élaboration d'un score ainsi qu'une méthodologie de validation pour les nouvelles méthodes par CCM au sein des divers services de radiopharmacie. L'objectif du score est de faciliter le choix d'une méthode alternative face à la multitude des méthodes existantes dans la littérature. Pour finir, une réflexion est menée sur l'élaboration d'un guide pratique portant sur les CQ de PRP. L'objectif de notre travail est de pouvoir apporter quelques clés en vue d'une harmonisation des pratiques concernant la réalisation de ces contrôles. Notre travail se limite aux contrôles de qualité de la PRC mais cette réflexion pourrait s'étendre aux autres contrôles de qualité tels la pureté radionucléidique et/ou les contrôles microbiologiques. A ce titre, un groupe de travail à la SoFRa s'est formé afin d'apporter une expertise sur ces contrôles de qualité qui restent une des préoccupations majeures des radiopharmaciens dans leur activité quotidienne.

PARTIE 1 : Préparations radiopharmaceutiques technétées

1. Réglementation

1.1 Médecine nucléaire et radiopharmacie

La médecine nucléaire est une spécialité médicale qui utilise des rayonnements ionisants principalement à des fins diagnostiques, mais également thérapeutiques. Son principe repose sur l'administration d'un radionucléide afin d'obtenir pour un organe cible des images fonctionnelles et métaboliques en diagnostic, ou une irradiation en thérapeutique. De nombreux progrès interviennent de nos jours dans ce domaine, notamment avec la théranostic. L'activité de médecine nucléaire donne lieu à un enregistrement préalable auprès de l'Autorité de sûreté nucléaire (ASN) et est soumise à inspection.

Depuis la directive européenne transposée en droit français par la loi n°92-1279 du 8 décembre 1992, l'article L-5121-1 du Code de la santé publique (CSP) intègre au monopole pharmaceutique, les préparations réalisées à partir de générateurs, trousse et précurseurs. C'est ainsi que les services de médecine nucléaire ont été tenus d'accueillir un radiopharmacien au sein de leur équipe dont les qualifications sont définies par arrêté (1).

Les médicaments radiopharmaceutiques (MRP) sont soit des médicaments prêts à l'emploi, soit sous forme de préparations. Les PRP sont régies par l'article R. 5126-9 du Code en tant qu'activité de la pharmacie à usage intérieur (PUI) soumise à autorisation. L'activité de radiopharmacie est soumise à une double législation : celle appliquée aux médicaments et leur préparation et celle liée au caractère radioactif des radionucléides.

1.2 Ressources

Les préparations se font sous contrôle d'un pharmacien remplissant les conditions d'exercice de la radiopharmacie. Les préparateurs en pharmacie hospitalière (PPH) ainsi que les manipulateurs d'électroradiologie médicale (MERM) sont sous la responsabilité technique du radiopharmacien selon l'article R. 4351-2-4 (2). Pour l'exécution des préparations, les règles d'hygiène et d'habillement sont celles des unités de pharmacotechnie hospitalière. Le personnel est muni d'équipements adaptés à l'importance du risque de contamination. Les règles d'asepsie sont rigoureusement respectées. De plus, le personnel doit avoir suivi une formation particulière pour la manipulation des produits radioactifs et doit se conformer aux règles de radioprotection.

1.3 Locaux

L'installation de médecine nucléaire doit satisfaire aux règles de conception, d'exploitation et de maintenance définies dans la décision n°2014-DC-0463 du 23 octobre 2014. Le guide de l'ASN n°32 vise à faciliter la mise en œuvre de cette décision. Le laboratoire de préparations des médicaments radiopharmaceutiques doit également se coordonner aux lignes directrices des bonnes pratiques de préparations (BPP). Conformément aux textes en vigueur en matière de radioprotection, les enceintes blindées sont en dépression et d'un système de ventilation indépendant équipé de filtres. Afin de répondre aux exigences de préparations aseptiques en système clos, les enceintes sont placées dans un environnement contrôlé de classe D (Iso 8) et équipées de sas pour l'entrée du matériel et des produits. Des prélèvements environnementaux atmosphériques et surfaciques sont régulièrement organisés. Le blindage des équipements doit être adapté aux activités, la protection des enceintes doit être conçue de façon, qu'en toutes circonstances, le débit de dose ne dépasse pas 25 μ Sv à 5cm de leurs parois.

1.4 Contrôles de qualité

Dans les années 50, aucune législation n'abordait la préparation et la dispensation des produits radiopharmaceutique. En 1963, la Belgique est le premier pays européen à fixer des obligations pour l'utilisation de radio-isotopes sous forme non scellée à usage médical. Dans les années 70, plusieurs pays européens réglementent l'activité et mettent en place des procédures d'enregistrement pour ces produits. La première autorisation de mise sur le marché française (AMM) date de 1978 et donne ainsi accès aux résumés des caractéristiques des produits (RCP) recueillant les instructions de préparation et de contrôle de qualité. Puis la directive européenne n°89/343 de 1989 assoit le statut des radiopharmaceutiques comme médicament au sein de l'union européenne. La reconnaissance comme médicament des produits radiopharmaceutiques entraîne des contrôles de production et de qualité. A ce titre, la PE joue un rôle important dans la définition des normes de qualité pour les radiopharmaceutiques qui disposent de monographies (3).

Selon la nature du MRP, la réalisation des contrôles de qualité incombe au fabricant et/ou au radiopharmacien. Les MRP (trousses, générateurs, prêts à l'emploi...) livrés en médecine nucléaire font l'objet d'une libération des lots et leur qualité est garantie par le fabricant. Un contrôle de l'intégrité des trousses doit être effectué à réception. Quant aux PRP réalisées au sein du service de radiopharmacie, ces dernières sont sous la responsabilité du radiopharmacien. Le comité de Radiopharmacie de l'Association européenne de médecine nucléaire (EANM) a élaboré un guide (cGRRP) en 2007 autour des bonnes pratiques de radiopharmacie et l'a réactualisé en 2021. Les préparations et les contrôles de qualité doivent être réalisés conformément aux instructions

mentionnées dans le RCP du fabricant. Tout écart doit faire l'objet d'une validation par le radiopharmacien. Les procédures relatives à la conduite à tenir en cas de non-conformité doivent également être écrites (4). Selon les BPP, les contrôles de qualité sont réalisés, autant que possible, par une personne différente de celle qui a préparé. La périodicité de ces contrôles est définie par le radiopharmacien. La libération des préparations est effectuée par le radiopharmacien, au vu des données enregistrées dans le dossier de lot qui répond aux spécifications établies par les BPP.

Les contrôles du radiomarquage, la mesure de la radioactivité finale et l'absence de particule visible doivent être systématiquement effectués (4). En fin de production, les PRP technétées sont soumises à plusieurs contrôles de qualité détaillés ci-après.

1) Le contrôle de l'aspect organoleptique

L'aspect visuel tient compte de la couleur et de la limpidité de la solution. Il doit être en conformité avec l'aspect attendu décrit dans les RCP.

2) Le contrôle du pH

Il est réalisé à l'aide de bandelettes colorimétriques. Le pH de la solution peut avoir une influence sur le radiomarquage, la stabilité du radiopharmaceutique, la sensation de douleur au point d'injection (comme le NephroMAG®) et même parfois modifier la biodistribution du radiopharmaceutique (exemple du DMSA®) (5).

3) La recherche d'impuretés

Les impuretés recherchées sont de différentes natures : pour l'éluat, on en distingue trois en déterminant la pureté chimique, la pureté radionucléidique et la pureté radiochimique. La qualité de l'éluat influe sur la pureté radiochimique des PRP. Les impuretés existantes font l'objet d'une partie dédiée ci-dessous.

4) Les contrôles microbiologiques

Comme toute préparation injectable, les PRP doivent être stériles et apyrogènes. Les tests de stérilité vérifient l'absence de contamination microbienne. Ils sont réalisés de façon aléatoire sur un nombre et une fréquence définis par le radiopharmacien. La PE préconise la libération paramétrique grâce à la maîtrise du procédé de préparation. La recherche d'endotoxines bactériennes n'est pas réalisée sur les PRP en dehors des MRP en essai clinique.

2. Impuretés

2.1 Impuretés recherchées dans un éluat de ^{99m}Tc

2.1.1 Principe de l'obtention d'un éluat

Le pertechnétate de sodium (TcO_4^-) s'obtient par élution stérile d'un générateur de $^{99}\text{Mo}/^{99m}\text{Tc}$, c'est-à-dire par le passage d'une solution de chlorure de sodium 0.9% sur une colonne d'alumine sur laquelle est adsorbé le ^{99}Mo . Le radionucléide parent ^{99}Mo est un produit de réacteur nucléaire ou de cyclotron qui se désintègre en donnant un élément fils, le technétium métastable (^{99m}Tc) de période physique plus courte que la sienne. Le schéma de désintégration est représenté sur la figure 1 ci-dessous.

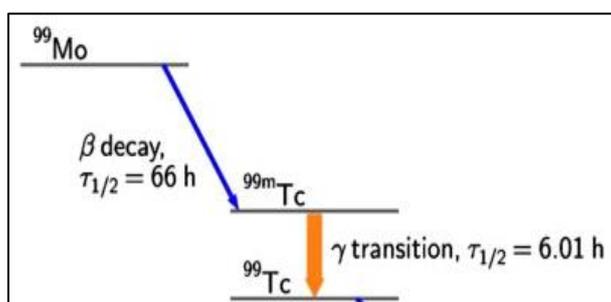


Figure 1 : schéma de désintégration $^{99}\text{Mo}/^{99m}\text{Tc}$

La récupération du ^{99m}Tc n'est envisageable que si le technétium est sous forme de pertechnétate de sodium. Sous un degré d'oxydation différent, le technétium n'est pas élué par le sérum physiologique et reste sur la colonne d'alumine. La forte activité en ^{99}Mo de la colonne en présence d'eau entraîne un phénomène de radiolyse de l'eau avec la formation de radicaux libres et la réduction de pertechnétate. Pour supprimer ce phénomène, certains producteurs ont mis en place dans leur générateur un système permettant d'éliminer l'eau en séchant la colonne, d'autres ajoutent des capteurs de radicaux libres tels que l'oxyde de manganèse à la colonne d'alumine ou du nitrate de sodium (NaNO_3) à 0.1% à l'éluant à base sérum physiologique. Il existe donc des générateurs à colonne sèche (type Ultratechnekow® (UTK®)) et ceux à colonne humide (type Tekcis®).

Il existe trois monographies du pertechnétate de sodium dans la PE selon son mode d'obtention (irradiation neutronique du molybdène, irradiation protonique de molybdène hautement enrichi ou produit de fission de l'uranium). Les impuretés recherchées pour la pureté radionucléidique diffèrent selon ces trois monographies. Les caractéristiques du pertechnétate sont mentionnées dans les RCP des générateurs commercialisés. La solution élue est une solution injectable isotonique, limpide et incolore, de pH compris en général entre 4 et 8, avec un taux d'aluminium inférieur à 5 ppm et de pureté radiochimique supérieure ou égale à 95% pour les générateurs Tekcis® et à 99% pour les UTK®. L'ensemble de ces paramètres est à contrôler puisque la qualité de l'éluat a un impact direct sur la qualité du radiomarquage des préparations radiopharmaceutiques.

2.1.2 Pureté radionucléidique

La pureté radionucléidique consiste à quantifier l'activité du ^{99m}Tc par rapport à l'activité totale, elle s'exprime en pourcentage. L'impureté recherchée dans l'éluat pour ce contrôle est principalement le ^{99}Mo , émetteur beta/gamma. Le ^{99}Mo peut interférer dans le radiomarquage et entraîner une irradiation involontaire du patient. De plus, la présence de ^{99}Mo dans l'éluat peut être à l'origine de micro-embolies par agrégation des globules rouges (6) ou responsable de fixation hépatique (7).

Le molybdène forme une liaison forte avec l'alumine de la colonne. L'anion pertechnétate est obtenu par échange d'anions chlorure au cours de l'éluat avec du NaCl selon les affinités suivantes : $\text{MoO}_4^{2-} > \text{Cl}^- > \text{NO}_3^- > \text{TcO}_4^-$ (8,9).

La teneur en ^{99}Mo est réalisée sur le premier éluat du générateur car il s'agit de l'éluat le plus concentré en impuretés chimiques et produits de dégradation (10). Lors des contrôles de qualité, il est vérifié que sa teneur soit inférieure à 0.1% de l'activité du ^{99m}Tc . En pratique, selon la PE, l'évaluation de la quantité de ^{99}Mo présent dans l'éluat peut être réalisée à l'aide d'un activimètre préalablement étalonné. Dans un flacon d'éluat placé dans un récipient plombé de 6 mm d'épaisseur, le flux de photons gamma du ^{99}Mo est atténué d'un facteur 2 contre un facteur $10^{^7}$ pour le ^{99m}Tc . Cela permet d'éliminer la quasi-totalité du rayonnement émis par le ^{99m}Tc . Elle peut également être évaluée par spectrométrie, le flux de photons gamma du ^{99}Mo varie de 739.5 à 777.9 keV contre 140keV pour le ^{99m}Tc . Le dépassement du seuil toléré de 0.1% de ^{99}Mo dans l'éluat peut se produire dans les situations suivantes (6) :

- la capacité d'échange d'ions de la colonne d'alumine est dépassée,
- le pH est supérieur à 7,
- la colonne d'alumine est brisée,
- les éluations sont excessives.

2.1.3 Activité spécifique ou l'impureté ^{99}Tc stable

Dans toute solution de pertechnétate, il y a en proportion variable à la fois du pertechnétate de sodium stable et métastable. Ces deux isomères ont le même comportement chimique et entrent en compétition pour la réduction par les ions stanneux ou autres réducteurs, mais également pour la fixation sur le vecteur. L'activité spécifique (As) correspond au rapport de l'activité de ^{99m}Tc à la masse globale de technétium ($^{99m}\text{Tc} + ^{99}\text{Tc}$). Leur degré d'oxydation est considéré comme similaire, il en résulte qu'ils sont élués ensemble avec le même rendement d'éluat. Il a été démontré une plus forte diminution de l'activité spécifique dans un éluat au cours du temps que dans la colonne. Il est donc préférable d'éluat au dernier moment et d'utiliser l'éluat conformément au délai mentionné dans les RCP. L'activité spécifique de l'éluat est un paramètre à prendre en compte pour décider du rythme

d'élution. Plus le temps écoulé entre deux éluions est faible, plus l'As est élevée. Ce paramètre est à prendre en compte lors des réactions de marquages et peut s'objectiver par le calcul. Idéalement pour l'As, il faudrait éluer deux fois par jour : dès le matin puis 2 à 3 heures plus tard. Le meilleur compromis est d'éluer une dernière fois, 16 heures avant l'élution du lendemain matin, afin que l'activité spécifique de l'éluat soit majorée de près de 40% au dépend d'une perte quotidienne d'activité éluable de 10% (11). Une étude a comparé la PRC de 8 troussees marquées à l'aide d'un générateur non élué 24 heures (contrôle) et 7 jours. Les résultats ont montré que le ^{99}Tc avait une influence significative sur la PRC mais les préparations restaient conformes (12).

2.1.4 Pureté chimique ou taux d'aluminium

Au cours de l'élution, la réduction du ^{99}Mo entraîne la libération d'alumine Al^{3+} dans l'éluat à cause du phénomène de radiolyse. L'interaction des rayonnements beta du ^{99}Mo avec l'eau peut entraîner la réduction du molybdate et du pertechnétate et libérer ainsi des cations Al^{3+} dans l'éluat (13). Ce phénomène se produit surtout lorsque l'activité volumique est importante (14). C'est pourquoi le contrôle de la pureté chimique s'effectue sur le premier éluat du générateur. La présence d' Al^{3+} peut également s'expliquer par un pH trop acide lors de l'adsorption du ^{99}Mo sur la colonne d'alumine (8). En plus d'être allergisant, les ions Al^{3+} peuvent réagir avec le tampon phosphate de certaines troussees et former des phosphates d'aluminium insolubles. Ils peuvent également modifier la biodistribution du radiotracteur (8). Ainsi il a été montré que la présence d' Al^{3+} peut diminuer la fixation de $^{99\text{m}}\text{Tc}$ de la thyroïde (15). Toutefois, compte tenu de la qualité des colonnes actuelles, le risque de dépasser la limite paraît maintenant exclu si la colonne reste intègre. En routine, une méthode semi-quantitative avec bandelette réactive permet d'évaluer si la concentration en aluminium est inférieure à 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ par comparaison avec une solution témoin à 5 ppm d'aluminium.

2.1.5 Pureté radiochimique ou recherche de $^{99\text{m}}\text{Tc}$ réduit

La pureté radiochimique est définie comme le rapport, exprimé en pourcentage, de la radioactivité du radionucléide considéré qui se trouve présent dans la source sous la forme chimique indiquée, à la radioactivité totale de ce même radionucléide présent dans la source. Si le générateur présente une forte activité volumique, le phénomène de radiolyse entraîne la formation de radicaux libres dans le milieu aqueux et la réduction du TcO_4^- en TcO_2 . Cela se produit essentiellement dans les générateurs à colonne humide et éventuellement dans un éluat « non frais ».

La mesure de la PRC nécessite une méthode pour séparer et détecter les différentes espèces radiochimiques qui peuvent être présentes. L'impureté recherchée dans l'éluat est le technétium réduit TcO_2 et la PRC doit être supérieure au seuil défini dans les RCP, soit une activité de TcO_4^- supérieure à 95% ou 99% de l'activité totale selon le générateur utilisé. La Pharmacopée européenne

décrit une méthode par chromatographie descendante sur papier. Elle prévoit 2 heures de migration et un temps de séchage la rendant incompatible à une application en routine. Une méthode alternative est largement proposée en réalisant une chromatographie sur couche mince à l'aide d'un support imprégné de gel de silice (10 cm) et d'une phase mobile d'acétone ou de NaCl à 0.9%. Le technétium réduit ne migre pas ($R_f=0$) à l'inverse du technétium libre qui migre totalement ($R_f=1$)(16).

2.2 Impuretés recherchées après un radiomarquage

2.2.1 Principe du radiomarquage

La préparation radiopharmaceutique (PRP) est obtenue par le marquage d'une trousse ayant un tropisme pour un organe, le vecteur, par un radioélément dont le ^{99m}Tc , marqueur largement utilisé en scintigraphie. Comme indiqué sur la figure suivante, le couplage de ces deux composés forme le médicament radiopharmaceutique, appelé historiquement traceur.

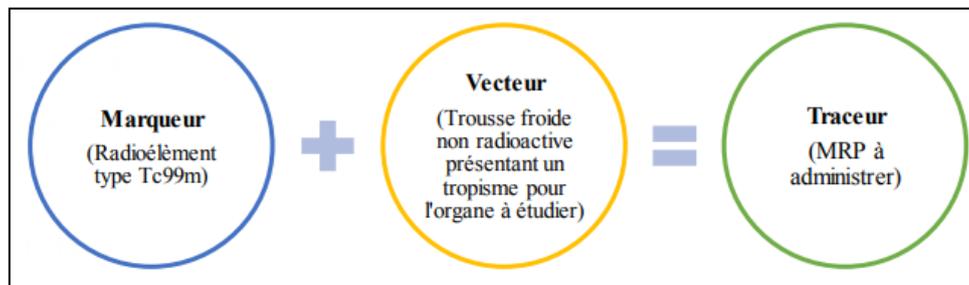


Figure 2 : principe de radiomarquage

Les molécules vectrices, spécifiques d'un organe, d'une fonction ou d'un récepteur, sont commercialisées sous forme de trousse. Elles correspondent à un ensemble de substances stériles, apyrogènes et pré-conditionnées capable de donner, après marquage par le radionucléide, le médicament radiopharmaceutique destiné à être administré au patient. Elles se présentent le plus souvent sous forme de flacons pressurisés sous azote contenant un lyophilisat.

En médecine nucléaire, les marqueurs utilisés sont des radionucléides produits artificiellement. Le ^{99m}Tc possède de nombreuses caractéristiques intéressantes pour une utilisation diagnostique :

- demi-vie de 6 heures,
- émission d'un photon gamma pur d'énergie 140keV,
- pénétrant et peu ionisant,
- pas de rayonnement bêta,
- facilement disponible grâce aux générateurs,
- coût raisonnable.

Le pertechnétate obtenu par élution ne donne pas directement de complexe, il doit être réduit à des degrés d'oxydation inférieure à VII pour pouvoir interagir et ainsi se complexer (figure 3). Le phénomène de réduction est permis par l'ajout de réducteur dans les trousse.

N	OS	Z	Complexing centres of Tc by:		Compound	Organ/tissue specificity
			Sigma bond	Pi bond		
4	+7	-1	—	(= O) ₄	Pertechnetate	Thyroid
5	+5	-1	O ₄	= O	Gluconate	Red blood cell labelling
			N ₃ S	= O	MAG ₃	Kidney
			N ₂ S ₂	= O	EC	Kidney
			S ₄	= O	DMSA(V)	Soft tissue tumours
5	+5	0	N ₄	= O	HMPAO	Brain, white blood cells
			N ₂ S ₂	= O	ECD	Brain
			S ₄	= N	NOET	Myocardium
6	+1	+1	C ₆	—	MIBI	Myocardium
	+1	+1	C ₃ N ₃ , C ₃ N ₂ O	—	'Tricarbonyl'	Various
	+3	+1	N ₂ O ₂ P ₂	—	Q 12	Myocardium
	+5	+1	P ₄	(= O) ₂	Tetrofosmin	Myocardium
6	+4		N ₃ O ₃	—	DTPA	Kidney
	+3	-1	S ₂ O ₃	—	DMSA(III)	Kidney
		-1	N ₂ O ₄	—	HIDA derivatives	Hepatobiliary system
	+4	-1	O ₆	—	Phosphonates	Bone
7	+3	0	N ₆ Cl	—	Teboroxime	Myocardial flow
7	+5	-1	N ₂ O ₄	= O	EDTA, DTPA	Kidney
					HIDA derivatives	Hepatobiliary system

Note: N = coordination number; OS = oxidation state; Z = electric charge.

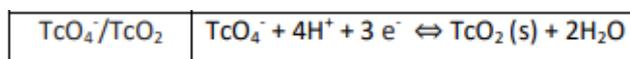


Figure 3 : état d'oxydation du TcO_4^- requis pour complexation (17)

Une fois réduit, le technétium doit être rapidement complexé par le ligand afin de former un complexe plus ou moins stable. Deux stratégies de synthèse peuvent être mises en œuvre pour le marquage du ligand au technétium (18) :

- **méthode directe** : le pertechnétate est réduit en présence du ligand. C'est la méthode actuellement la plus utilisée pour les trousse. Trois composants sont impliqués selon des proportions définies à 10^{-7}M pour le pertechnétate (TcO_4^-), de 10^{-3} à 10^{-5}M pour le réducteur (R) et de 10^{-2} à 10^{-3}M pour le ligand (L) (19). Le réducteur le plus communément utilisé est l'ion stanneux Sn^{2+} . Disponible sous forme de chlorure d'étain (SnCl_2), sa solubilité est suffisante à pH neutre si la complexation est immédiate et directe. La méthode directe ne peut être réalisée que si la cinétique de complexation est rapide et si la concentration en ion pertechnétate (état d'oxydation VII) est bien inférieure aux concentrations du ligand et du réducteur. Si la concentration en ligand n'est pas suffisante et/ou si la complexation par celui-ci est trop lente, il se forme du TcO_2 , le technétium hydrolysé, qui est une forme non réactive de technétium.

- **méthode indirecte** : le principe consiste à réaliser, dans une première étape, la synthèse d'un complexe de faible constante de stabilité par la méthode directe. Dans une seconde étape, un échange de ligand sur ce complexe intermédiaire est effectué, permettant la formation d'un nouveau complexe ayant une constante de stabilité très supérieure. Ces ligands faibles ou ligand de transfert, notés (L') stabilisent rapidement le technétium en formant des complexes intermédiaires [^{99m}Tc-L'] qui s'échangent par la suite totalement avec le ligand. Par exemple, il sera utilisé les ions tartrate, citrate ou gluconate pour les complexes intermédiaires (L') des trousseaux à base de mertiatide, sestamibi et tétrafosmine respectivement (9).

En résumé, la complexation peut être :

- **directe** : $TcO_4^- + R \rightarrow Tc \text{ réduit} \rightarrow \text{complexe } TcL$,
- ou **indirecte** $TcO_4^- + R + L' \rightarrow \text{complexe } TcL' + L \rightarrow \text{complexe } TcL$.

Le complexe de technétium est formé de l'ion central métallique technétium avec un ou plusieurs ligands. Le complexe peut être chargé négativement, neutre ou positivement. La charge dépend des pKa mais aussi du pH et de la charge du cœur. Plusieurs géométries de coordination sont possibles avec un nombre de coordination pouvant varier de 1 à 12 en théorie, mais plus souvent de 2 à 6. Le nombre de coordination est le nombre d'atomes directement liés à l'atome de technétium central. Chaque ligand peut former jusqu'à 6 liaisons avec le technétium, il est alors dit hexadenté (20). La figure ci-dessous présente quelques exemples de complexes technétiés utilisés en tomographie par émission monophotonique (TEMP).

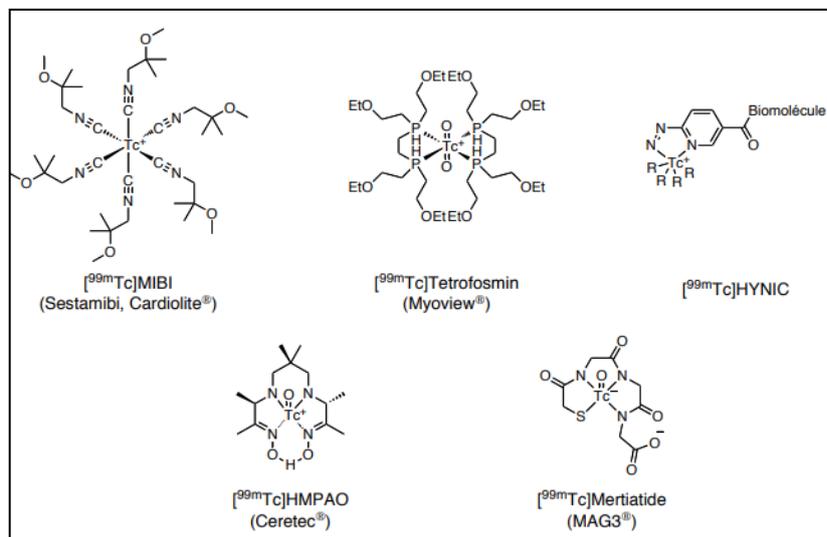


Figure 4 : exemples de complexes de ^{99m}Tc utilisés en TEMP (21)

2.2.2 Pureté radiochimique

Lors du contrôle de PRC des préparations issues de trousse radiomarquées, on ne connaît pas toujours toutes les formes chimiques des impuretés existantes. Et même lorsqu'elles sont connues, celles-ci ne sont pas toujours quantifiables par CCM (propriétés physicochimiques proches du complexe d'intérêt).

On s'intéresse alors principalement à deux impuretés :

- le pertechnétate n'ayant pas été réduit appelé communément le technétium libre oxydé (TcO_4^-)[Tc(VII)],
- le $^{99\text{m}}\text{Tc}$ réduit (TcR) qui comprend la forme hydrolysée non complexée (TcO_2) et la forme colloïdale d'étain technétié qui se forme par hydrolyse du chlorure d'étain et qui fixe le TcO_2 sous forme de complexes d'hydroxyde stanneux (22).

Ces deux impuretés sont répertoriées dans la plupart des monographies et leurs limites définies par la PE et les RCP.

Il existe également des impuretés technétiées distinctes, liées à la formation de précurseurs ou autres réactions. Elles peuvent être décrites dans les RCP (tels que dans les RCP du Ceretec[®] et Nephromag[®]) ou dans la littérature (exemple du NanoHSA[®])(23). De nombreux facteurs peuvent influencer sur la qualité du radiomarquage et la valeur de PRC. Cela peut être lié à des facteurs inhérents au mode opératoire du radiomarquage ou des facteurs extérieurs. Il est important de suivre correctement les étapes de radiomarquage mentionnées dans le RCP (activité et volume d'éluat, âge de l'éluat, ordre de mélange, temps d'incubation, chauffage...) ainsi que de prendre en compte la durée de stabilité des trousse. Un non-respect de ces étapes doit toujours être validé en amont afin de s'assurer que la PRC reste conforme. Par exemple, lors du radiomarquage du $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -MAG3 : l'apparition de deux impuretés dont le disulfure MAG3 peut être évitée si la préparation respecte un temps de réaction suffisant (>10 min) (24).

Par ailleurs, les impuretés peuvent résulter de réactions de décomposition dues à l'action de solvant, du changement de température ou de pH, de la lumière, de la présence d'oxydants ou de réducteurs en excès dans le milieu réactionnel. Par exemple, lors du radiomarquage des trousse MAG3, il a été mis en évidence la présence d'une impureté lipophile lorsque le chlorure de sodium est en contact trop longtemps (>15min) avec une seringue en 3 parties de type Plastipak[®]. Cet effet n'est pas significatif avec d'autres trousse (25). Nous avons relevé un autre exemple lorsque le nanocolloïde d'albumine et l'examétazime sont préparés à partir de chlorure de sodium contenu dans des ampoules en plastique qui ont été exposées à la lumière. La PRC est alors affectée (26). Idem pour les trousse MAG3, l'exposition des ampoules en plastique à la lumière provoque la lixiviation de certains composés dans la solution. Un composé inconnu déstabilise alors le complexe intermédiaire $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -tartrate (27).

2.2.3 Les 2 principales impuretés

❖ Origines de l'impureté TcO_4^- libre

La présence de TcO_4^- peut s'expliquer par différentes causes :

- Si le pertechnétate de sodium de l'éluat est en excès lors du radiomarquage de certaines trousse (non-respect des instructions RCP ou un défaut du lyophilisat), la PRC peut être non conforme par la présence trop élevée de l'impureté TcO_4^- . Le marquage de ^{99m}Tc -DMSA, des dérivés d'acide ^{99m}Tc -iminodiacétique (IDA) et de ^{99m}Tc -MAA est particulièrement sensible sur ce point. Les impuretés radiochimiques augmentent avec la diminution de la concentration de réactifs (28)
- En présence d'air, l'oxydation des ions stanneux peut limiter la réduction du TcO_4^- et empêcher ainsi la complexation. Par ailleurs, le ^{99m}Tc -complexe peut se réoxyder en TcO_4^- et ce phénomène est accéléré avec la teneur en air dans le flacon. Le taux de réoxydation est le reflet de la stabilité de la PRP. La réoxydation est minimisée en évitant l'introduction d'air dans le flacon et par l'atmosphère d'azote dans les flacons. Il est aussi ajouté parfois un antioxydant de type acide ascorbique dans les trousse (22).
- En cas de non-respect des instructions de radiomarquage de certaines trousse, la complexation peut ne pas s'effectuer. La figure 5 ci-dessous illustre la présence d'un pic de TcO_4^- lors du contrôle de PRC en l'absence de chauffage pour le radiomarquage du Stamicis®.

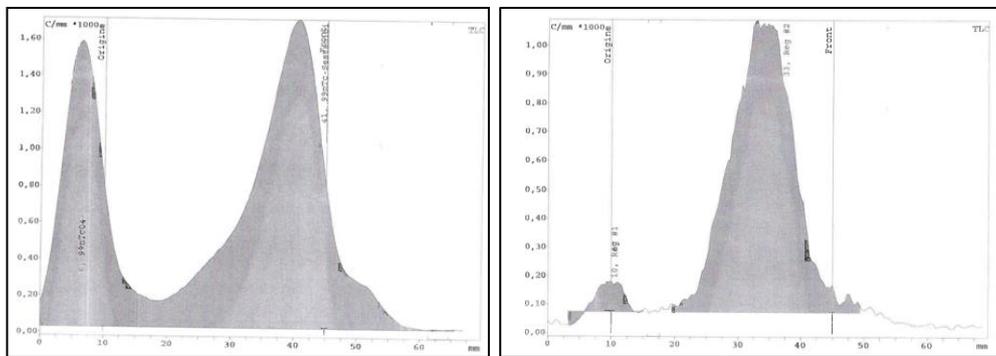


Figure 5 : comparaison des radiochromatogrammes obtenus par la méthode (Whatman 31/acétate d'éthyle et séchage du dépôt) sans chauffage (gauche) et avec chauffage (droite) lors du radiomarquage du Stamicis®
Rf (TcO_4^-)=0; Rf (TcR)=0; Rf (^{99m}Tc -sestamibi)=0.5

- En outre, le complexe TcL est plus ou moins stable en fonction du ligand. Il existe une probabilité de décomplexation. Le ^{99m}Tc libéré peut alors soit être réduit s'il est mis en présence de réducteur, soit oxydé en pertechnétate en présence d'oxygène, soit capté par un autre ligand s'il en reste ou si on lui en apporte de nouveaux (*in vivo* ou au contact du sang). Un marquage qui se déstabilise sera marqué par une réapparition de technétium libre TcO_4^- ou de technétium réduit hydrolysé.

❖ Origines de l'impureté ^{99m}Tc réduit hydrolysé (TcO_2 et forme colloïdale)

- En présence d'eau, les ions stanneux s'hydrolysent et réagissent avec les radicaux libres formés par radiolyse. S'ils se lient au TcO_4^- réduit, il y a formation de TcO_2 qui interfère dans le marquage. Tout le TcO_2 formé n'est pas du ^{99m}Tc complexé. C'est une impasse car cette forme insoluble dans l'eau ne peut plus par la suite se complexer, elle est thermodynamiquement stable et non réactive.
- En milieu basique, le SnCl_2 précipite et entraîne la formation de colloïdes d'étain technétiés qui se fixent au niveau rénal (29). Certaines trousse contiennent du tartrate qui stabilise le milieu (30). De plus, dans certaines trousse, l'agent chélateur et l'agent réducteur doivent être mélangés avant d'ajouter le pertechnétate. Si le ^{99m}Tc interagit avec le Sn^{2+} en l'absence d'un agent chélateur, il y aura des niveaux très élevés d'impureté colloïdale de ^{99m}Tc -étain (28).
- Le complexe formé est plus ou moins stable comme évoqué précédemment avec réapparition possible de technétium réduit et hydrolysé.

❖ Conséquences de la présence d'impuretés

Ces impuretés peuvent diminuer la qualité des images illustrées par la figure ci-dessous et conduire à une interprétation imprécise des diagnostics et/ou provoquer une irradiation inutile du patient et de l'opérateur si l'examen doit être répété.

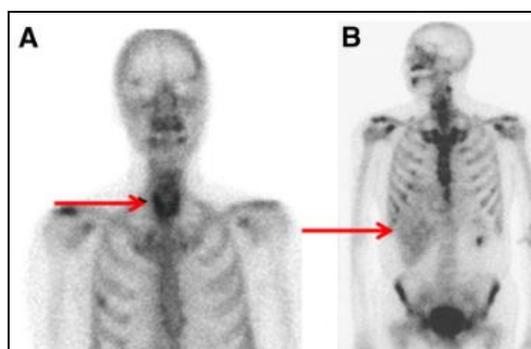


Figure 6 : biodistribution altérée de la scintigraphie osseuse causée par des impuretés radiochimiques,
(A) Absorption thyroïdienne causée par le TcO_4^- ,
(B) Absorption hépatique diffuse causée par les colloïdes d'étain technétié (28)

Par exemple, l'anion pertechnétate TcO_4^- se comporte similairement à l'anion iodure I^- et est capté par le symporteur sodium/iodure. Cet effet peut provoquer une absorption indésirable de TcO_4^- dans la thyroïde (figure 6 A) mais aussi dans les glandes salivaires et tissus gastriques, compromettant la qualité de l'image et délivrant une dose de rayonnement injustifiée au patient (23).

Le tableau 1 propose un aperçu de la biocinétique du TcO_2 et du TcO_4^- . Il est considéré que le TcO_2 se comporte de façon similaire au TcO_4^- avec toutefois une fixation hépatique plus importante et un peu

moins gastrique (31). Quant au colloïde d'étain technétié, il est fixé par les cellules du système réticulo-endothélial avec une élimination rénale (30). Il peut alors fausser les images au niveau du foie (figure 6 B), de la rate ou des ganglions (28,32,33).

Tableau 1 : nombre de particules par organe après injection sur des rats (31)

Source organ	Number of particles $N_p (10^{10})$	
	$^{99m}\text{TcO}_4^-$	$^{99m}\text{TcO}_2$
Bladder	1.449	1.132
Brain	0.169	0.101
Heart	1.424	1.152
Liver	0.582	1.050
Stomach	7.823	4.944
Right kidney	-	-
Left kidney	-	-
Thyroid	1.341	0.823

2.2.4 Complexes technétiés secondaires

Le radiomarquage de certaines préparations ainsi que la présence d'excipients peuvent entraîner l'apparition d'autres impuretés dont la structure n'est pas forcément connue. Différents RCP mentionnent des complexes secondaires dans leurs trousse, notamment ceux du Nephromag®, Technescan MAG3® ou encore celui du Ceretec®. Malgré l'existence de méthodes validées par les fabricants, toutes ces impuretés ne sont pas toujours quantifiées par les méthodes RCP. Par conséquent, il est parfois nécessaire de développer une méthode alternative afin de les mettre en évidence. Selon un article les impuretés hydrophiles auront tendance à se concentrer au niveau de la vessie et du rein alors que les impuretés lipophiles se fixeront au niveau du foie et du tractus gastro-intestinal (28). A ce titre, nous proposons une liste non exhaustive ci-dessous des complexes technétiés secondaires documentés dans la littérature et classés par trousse.

❖ Trousse à base d'acide dimercaptosuccinique (DMSA)

Selon le pH de la solution, différents complexes se forment avec le DMSA. A pH acide, il est obtenu du $^{99m}\text{Tc(III)-DMSA}$ pour évaluer la fonction rénale. A pH basique ou en présence d'oxydant (O_2) le $^{99m}\text{Tc(III)-DMSA}$ s'oxyde en $^{99m}\text{Tc(V)-DMSA}$, ce qui entraîne une modification de l'affinité du radiotraceur vers les cellules en prolifération (figure 7). Le $^{99m}\text{Tc(V)-DMSA}$, commercialisé à l'étranger, est utilisé pour le diagnostic du carcinome médullaire de la thyroïde et se fixe aussi dans le cartilage de croissance (Figure 8). D'autres auteurs préconisent aussi un barbotage à l'oxygène de 10 minutes pour obtenir un meilleur radiomarquage du $^{99m}\text{Tc(V)-DMSA}$ à partir du $^{99m}\text{Tc(III)-DMSA}$ (34,35).

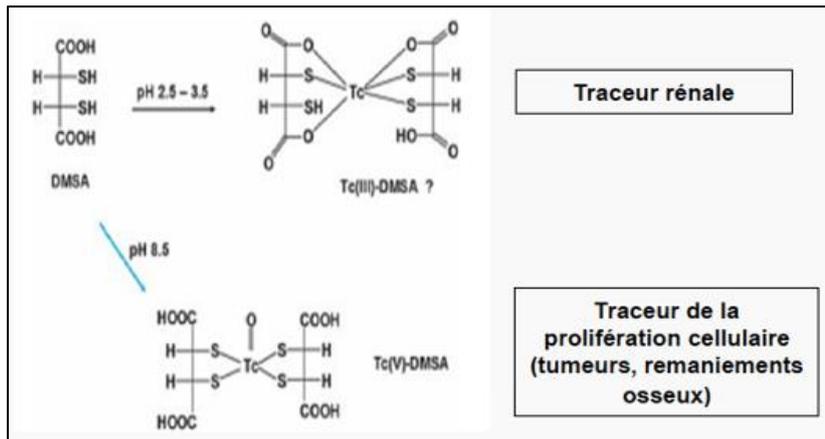


Figure 7 : structure du $^{99m}\text{Tc(III)-DMSA}$ et $^{99m}\text{Tc(V)-DMSA}$ (36)

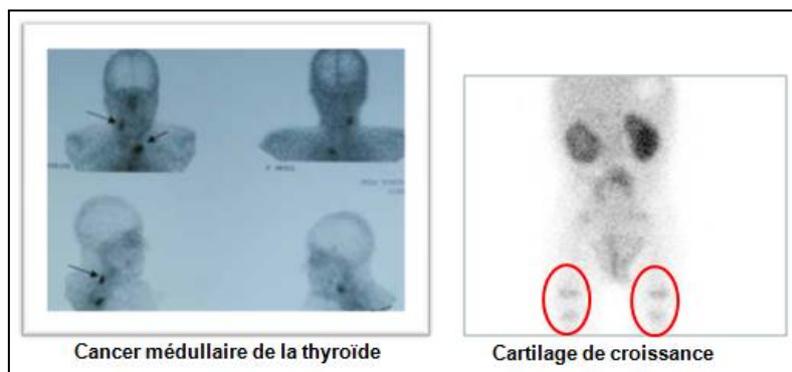


Figure 8 : scintigraphies obtenues à partir de l'injection de $^{99m}\text{Tc(V)-DMSA}$

❖ Trousses à base de MAG3

Les RCP mentionnent l'existence d'impuretés lipophiles ($^{99m}\text{Tc-MAG2}$) et hydrophiles (TcO_4^- , $^{99m}\text{Tc-tartrate}$ et $^{99m}\text{Tc(MAG3)}_x$) mises en évidence par CLHP ou SEP-Pak (37–40). Selon la Pharmacopée, le contrôle de la préparation du mertiatide marqué au ^{99m}Tc est basé sur une analyse par CLHP en association avec une CCM pour l'impureté ^{99m}Tc colloïdale (41). La figure 9 ci-dessous donne un aperçu du résultat obtenu par CLHP. Les impuretés hydrophiles ($\text{Tr} < 4 \text{ min}$) et lipophiles ($\text{Tr} > 6 \text{ min}$) sont séparées du $^{99m}\text{Tc-MAG3}$ (pic principal) et sont facilement quantifiées pour obtenir la PRC.

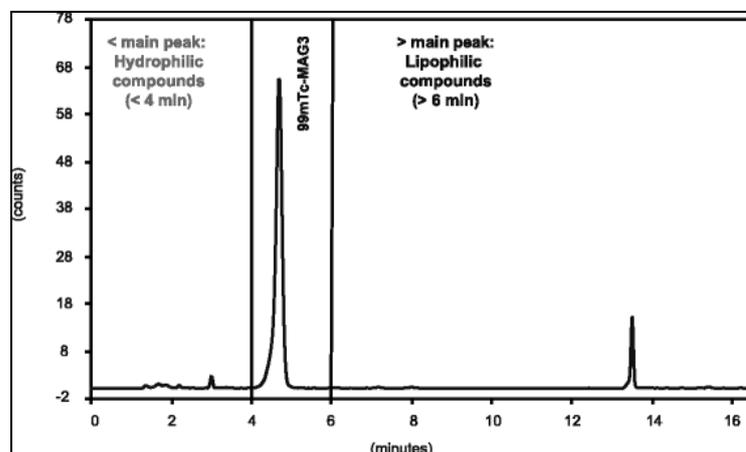


Figure 9 : exemple de chromatogramme obtenu avec la méthode de la PE

Les impuretés lipophiles sont captées par le foie et peuvent gêner la quantification de la fonction rénale (42). Par ailleurs, certains systèmes chromatographiques sous-estiment la présence de ces impuretés comparativement à d'autres systèmes (Figure 10). Un autre article mentionne l'excrétion hépatobiliaire du ^{99m}Tc -MAG3 et ses impuretés à partir de transporteurs anioniques au niveau du foie. Cet article conseille d'utiliser 10 mL de NaCl plutôt que 5 mL initialement préconisés par le RCP du Technescan MAG3® afin d'optimiser le radiomarquage et limiter ainsi les impuretés (43).

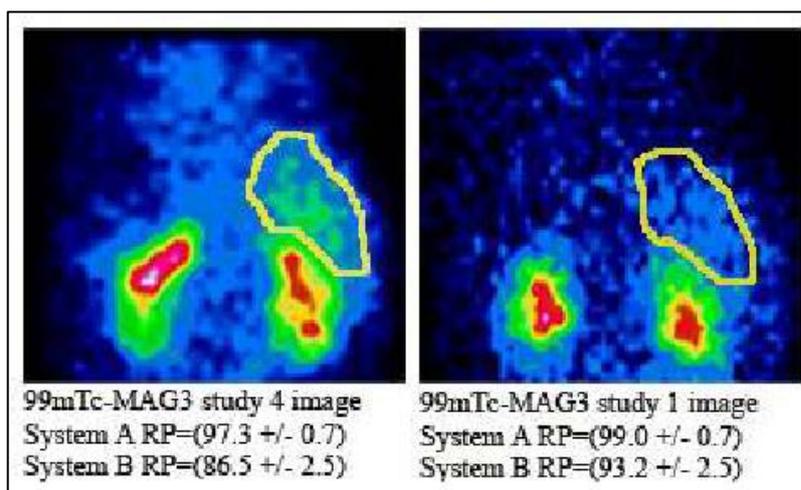


Figure 10 : fixation hépatique causée par ^{99m}Tc -MAG3 lipophile et mise en évidence de la surestimation de la PRC avec le système chromatographique A versus le système B (42)

❖ Trousses à base d'exametazime (HMPAO)

Les résultats de PRC du marquage ^{99m}Tc -HMPAO dépendent de la qualité de l'éluat. Il a été démontré des différences significatives de PRC entre des lots marqués avec un éluat de 24h et un éluat de moins de 4h. Ces résultats s'expliquent probablement par le phénomène de radiolyse de l'eau ou de la baisse d'activité spécifique (44). Le complexe secondaire de ^{99m}Tc -exametazime mentionné comme impureté dans le RCP du Ceretec® est un diastéréoisomère du complexe d'intérêt d,l-HMPAO (figure 11) : il s'agit de la forme méso-HMPAO identifiée par chromatographie liquide couplée à un spectromètre de masse (45). Cette impureté a une faible rétention cérébrale et est donc inutile à l'évaluation de la perfusion cérébrale (9).

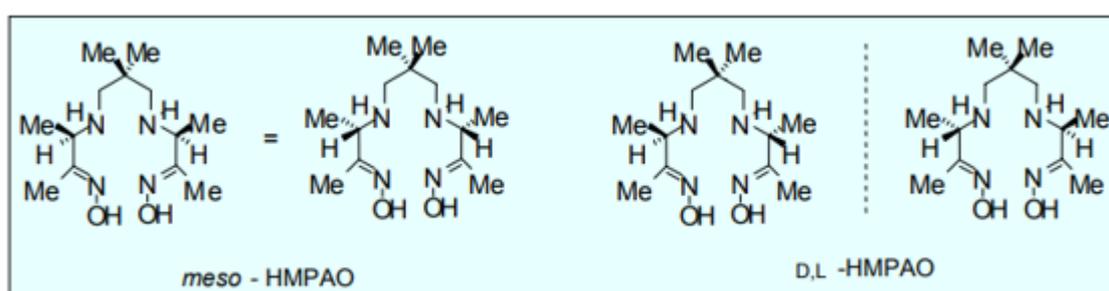


Figure 11 : structure chimique des formes méso-HMPAO et d,l-HMPAO (9)

❖ Trousse à base de tetrofosmine

Le RCP du Myoview® mentionne un complexe hydrophile comme impureté supplémentaire au TcO_4^- et TcR. Au regard des excipients présents, il s'agit probablement du ^{99m}Tc -gluconate qui se fixe au niveau du foie, de la moelle osseuse et de l'estomac avec une élimination urinaire (figures 12 et 13) (46).

Experiment No.	Material injected*	Distribution of activity in the rat 1 hr after i.v. injection†			
		Kidneys	Liver	Stomach	Bowel
1	A	13.6	1.3	0.9	6.1
	B (10%)	16.1	1.3	0.1	5.3
2	A	17.9	1.4	0.1	6.9
	B (20%)	21.3	1.6	0.2	8.0
3	A	18.2	0.8	0.2	2.8
	B (70%)	19.7	0.9	0.5	8.0
4	A	18.9	1.8	0.6	4.3
	B (20%)	18.4	1.2	0.2	3.9

* A. ^{99m}Tc -Sn-gluconate before gel filtration; B. Chelate fraction of filtrate, percent not eluted from gel in parenthesis.
† Percent of injected dose, average of 2 rats.

Figure 12 : biodistribution du ^{99m}Tc -Sn-gluconate (46)

Preparation	Radiochemical purity method	Other tests	pH
Technetium [^{99m}Tc] Gluconate Injection	Activated ITLC-SA using (a) 0.9% saline for 10–15 cm in 10 min; complex + pertechnetate near solvent front; (b) butan-2-one; pertechnetate near solvent front	Physiological distribution: $\geq 15\%$ in kidney, $\geq 20\%$ in bladder + urine, $\leq 5\%$ in liver in 2/3 rats	6.0–8.5

Figure 13 : méthode CCM pour identification du ^{99m}Tc -gluconate (47)

Cette impureté est mise en évidence par CCM à partir de support ITLS-SA ou ITLC-SG et de NaCl à 0.9% : le ^{99m}Tc -gluconate et le TcO_4^- migrent totalement alors que le complexe ^{99m}Tc -tetrofosmine et le TcR restent au dépôt. Une étude réalisée au CH d'Aix-en-provence a mis en évidence un taux très limité de cette impureté (<1%) (figure 14).

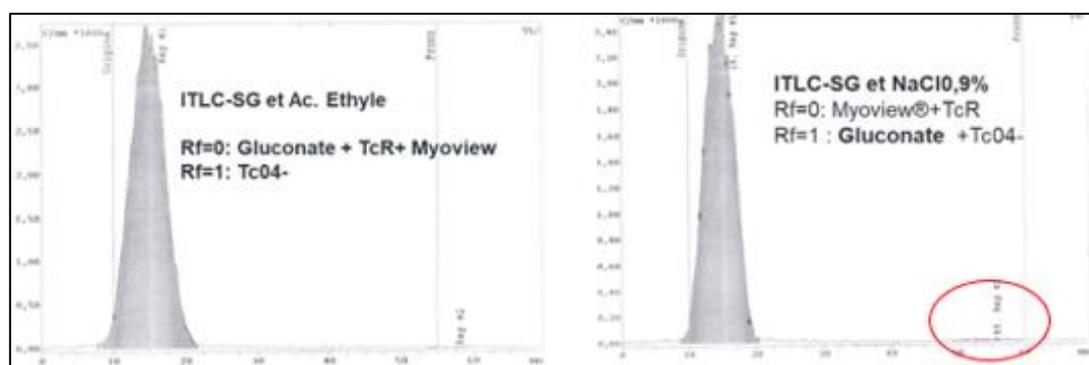


Figure 14 : mise en évidence du ^{99m}Tc -gluconate

❖ Trousse à base de sestamibi

Le radiomarquage du sestamibi peut s'accompagner de complexes ^{99m}Tc -isonitriles. Cela s'expliquerait par la présence d'additifs dans le solvant (de type NaNO_3) des générateurs à colonne humide et dans l'éluat (48). Cette impureté semble spécifique au sestamibi car aucune diminution de la PRC induite par le NaNO_3 n'a été observée avec d'autres composés (48). Ce phénomène s'explique probablement par le faible état d'oxydation du technétium (+I) dans le complexe ^{99m}Tc -sestamibi qui implique 7 complexes intermédiaires. Un autre article rapporte aussi que l'utilisation d'une première élution par rapport à une élution ultérieure (+6h) des générateurs à colonne humide dans le radiomarquage du sestamibi est associée à un plus fort taux de non-conformités de la PRC (49). Il est donc recommandé d'utiliser des générateurs sans nitrate pour améliorer la qualité du radiomarquage ou *a minima* de ne pas utiliser l'éluat de la première élution. Cette impureté n'est pas décrite dans le RCP de la trousse Stamicis® et la méthode d'évaluation de la PRC décrite ne permet pas de l'isoler et la quantifier (figure 15). Patel et al proposent une méthode alternative (Whatman 3MM®/acétate d'éthyle) permettant d'isoler rapidement le complexe ^{99m}Tc -sestamibi ($R_f=0.55-0.75$) du TcO_4^- , du TcR ($R_f=0-0.1$) et des autres impuretés migrant au front de solvant (50).

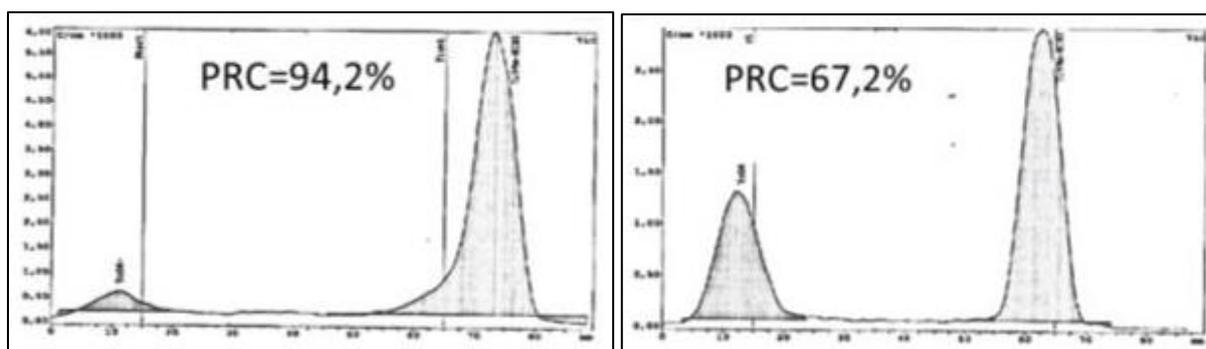


Figure 15 : comparaison des radiochromatogrammes obtenus à partir d'un même échantillon avec la méthode de Patel (droite) et la méthode du RCP Stamicis® (gauche)

Le complexe ^{99m}Tc -isonitrile n'a montré aucune absorption cardiaque et une élimination rénale rapide chez le rat (51). Selon Métaïyé et al., cette impureté n'a pas modifié l'interprétation de la scintigraphie myocardique de perfusion probablement parce qu'elle n'est pas dans le champ de vision du cœur (48). A l'inverse, au CH Aix-en-provence cette impureté a été relevée par les médecins nucléaires, le « sous-dosage » induit par cette impureté pouvait être à l'origine d'artefact rendant parfois douteuse l'épreuve d'effort (52). Il a été démontré une corrélation significative (table pearson, $p < 0,01$) entre les valeurs de PRC obtenue avec la méthode alternative et la fixation cardiaque du traceur contrairement à la méthode RCP (figure 16). Une diminution moyenne de la captation cardiaque de 33% a été constatée lorsque le Stamicis® avait été préparé avec un générateur Tekcis® comparativement avec un générateur à colonne sèche (Figure 17).

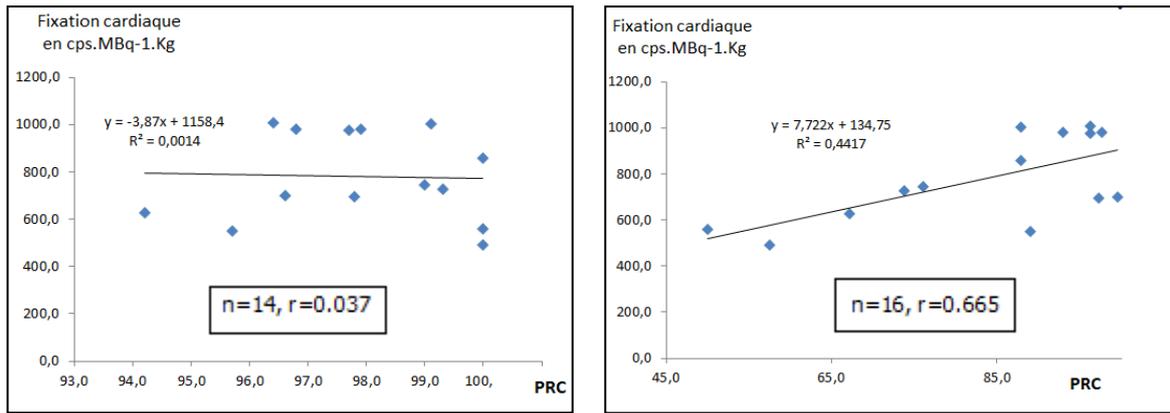


Figure 16 : étude de corrélation entre la fixation cardiaque et les valeurs de PRC obtenues par la méthode RCP (gauche) et la méthode alternative de Patel (droite)

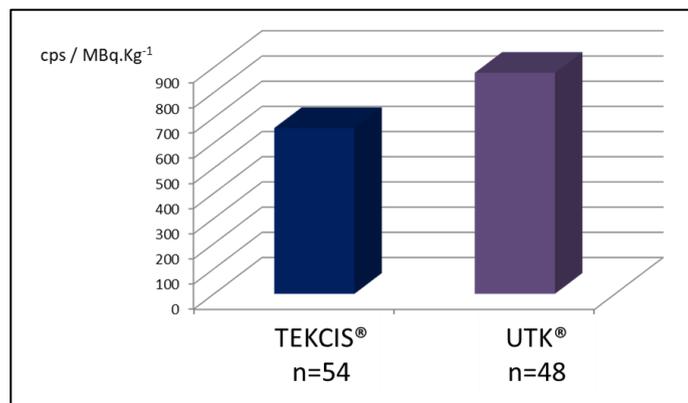


Figure 17 : influence de la nature de l'éluat sur la captation cardiaque du Sestamibi®

❖ Trousse à base d'EDDA/HYNIC-octréotide

Le RCP du Tektrotyd® ne mentionne pas d'impuretés autre que le TcO_4^- et le TcR mais les excipients tels que le mannitol (53) et la tricine (54) peuvent se complexer au ^{99m}Tc en présence de réducteur. Le ^{99m}Tc -mannitol est essentiellement éliminé par voie rénale (55). Il est également possible que le TcO_4^- et TcR forment des complexes technétiés avec le co-ligand ^{99m}Tc -EDDA et ^{99m}Tc -tricine (56). Ces impuretés hydrophiles peuvent être mise en évidence par une méthode CCM à triple système chromatographique à partir de support ITLS-SG (57) (figures 18 et 19). Par ailleurs, une étude s'est intéressée aux facteurs influençant les résultats de PRC et en conclut que l'âge de l'éluat, le temps de chauffage et la stabilité de la préparation radiomarquée influencent les résultats de PRC (58).

Radiochemical species	Stationary phase	Mobile phase	Rf
$^{99m}\text{TcO}_4^-$	TLC-SG	Sodium citrate buffer 0.1 N pH 5.0	1
$^{99m}\text{TcO}_2$			0
$^{99m}\text{Tc-coligand}$			1
$^{99m}\text{Tc-HYNIC-TOC}$			0
$^{99m}\text{TcO}_4^-$	TLC-SG	Methylethylketone	1
$^{99m}\text{TcO}_2$			0
$^{99m}\text{Tc-coligand}$			0
$^{99m}\text{Tc-HYNIC-TOC}$			0
$^{99m}\text{TcO}_4^-$	ITLC-SG	Methanol:ammonium acetate (1:1)	1
$^{99m}\text{TcO}_2$			0
$^{99m}\text{Tc-coligand}$			1
$^{99m}\text{Tc-HYNIC-TOC}$			1

Figure 18 : système chromatographique triple pour l'évaluation de la PRC du $^{99m}\text{Tc-HYNIC/TOC}$ et leur Rf (56)

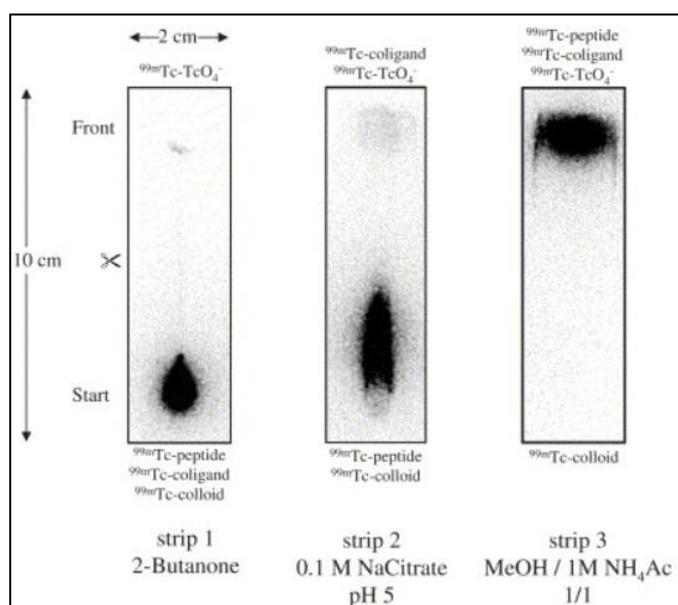


Figure 19 : chromatographes obtenus pour l'évaluation de la PRC du $^{99m}\text{Tc-HYNIC/TOC}$ (57)

❖ Trousse à base de nanocolloïdes d'albumine

Un article s'est intéressé à comparer 3 systèmes chromatographiques qui diffèrent des méthodes RCP du NanoHSA[®]. Deux de ces méthodes (ITLC-SG/méthanol 85% ou ITLC-SA/NaCl 0.9%) permettent de mettre en évidence des impuretés hydrophiles dont le $^{99m}\text{Tc-glucose}$ qui ne sont pas mis en évidence avec la méthode RCP (ITLC-SG/méthyléthylcétone ou ITLC-SA/acétone) (23). Une étude interne menée au CH d'Aix-en-provence a permis d'estimer le taux de glucose technétié présent dans une préparation de NanoHSA[®] variant de 0 à 5% (figure 20). Le glucose technétié est un marqueur du métabolisme (59).

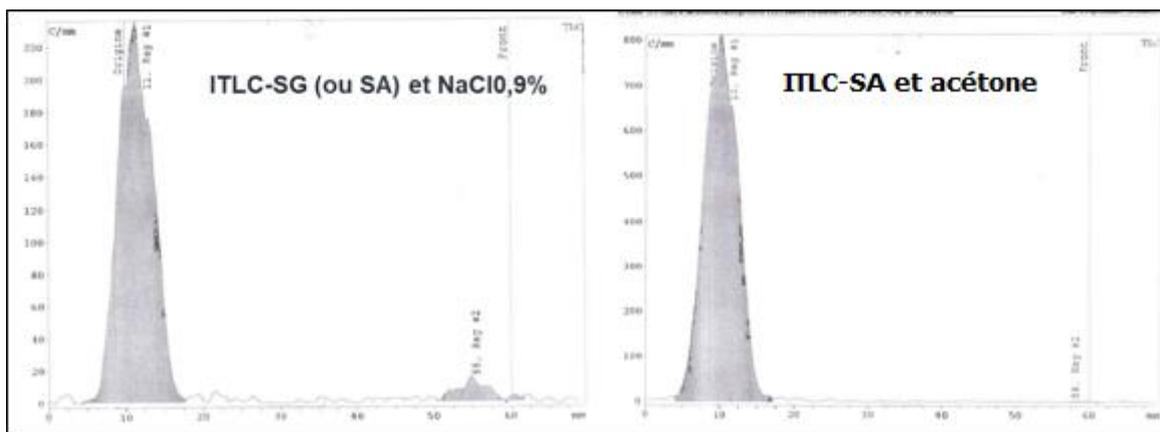


Figure 20 : comparaison d'une méthode alternative (gauche) permettant de mettre en évidence le glucose technétié dans un échantillon de NanoHSA® versus la méthode de référence (droite)

❖ Trousses à base de sulfure de rhénium

Concernant les préparations de Nanocis®, le pyrophosphate contenu dans la trousse, utilisé comme réducteur, peut se complexer en ^{99m}Tc -pyrophosphate et se fixer au niveau osseux (60). Le ^{99m}Tc -pyrophosphate n'est pas mis en évidence avec la méthode RCP mais une méthode alternative par CCM (Whatman 17CHR/NaCl 0.9%) peut l'isoler ($R_f=1$) du complexe d'intérêt ($R_f=0$). Le taux de ^{99m}Tc -pyrophosphate n'est souvent pas négligeable et peut être de l'ordre de 10% (figure 21).

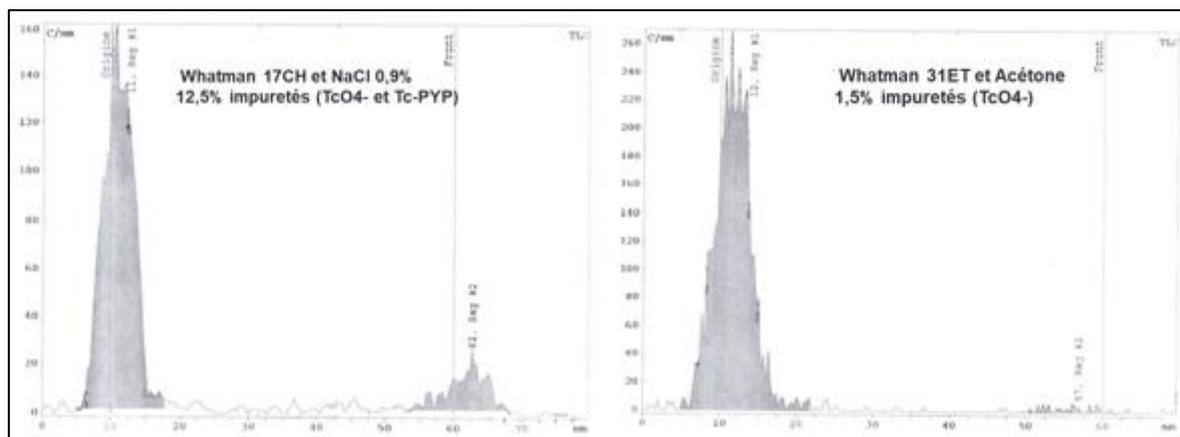


Figure 21 : mise en évidence du ^{99m}Tc -pyrophosphate avec une méthode alternative (gauche) versus la méthode RCP (droite)

❖ Trousses à base de diphosphono-1,2-propane dicarboxylique (DPD)

La trousse Teceos® contient un excipient sous forme d'acide L-glutamique qui peut potentiellement se complexer au ^{99m}Tc en présence de réducteur. Le DPD peut donc potentiellement contenir du glutamine technétié qui pourrait altérer la qualité des images. A ce titre, un article s'est intéressé au marquage de L-glutamine par le ^{99m}Tc et a étudié sa biodistribution sur des souris. Le complexe s'accumule dans les tissus mous de l'abdomen (61).

3. Techniques existantes pour le CQ de la PRC

La pureté radiochimique peut être réalisée par différentes techniques analytiques : chromatographie, extraction, électrophorèse, filtration. Les techniques chromatographiques séparent ces composants par la migration d'une phase mobile sur une phase stationnaire. La séparation s'opère en fonction des propriétés physico-chimiques et l'affinité des composants vis-à-vis des phases utilisées. Leur quantification s'effectue à l'aide d'un appareil de mesure de la radioactivité. Nous verrons ci-après les méthodes utilisées en radiopharmacie de la plus élaborée à la plus simple.

3.1 Chromatographie liquide haute performance (CLHP)

La CLHP est une technique répandue et inscrite à la PE. A l'origine, la chromatographie de partage s'effectuait sur des colonnes en verre où le passage de la phase mobile à travers la phase stationnaire résultait de la gravité. L'utilisation des hautes pressions à l'aide d'une pompe pour accélérer le passage dans la colonne est arrivée plus tard, d'où l'apparition du terme chromatographie liquide haute pression. Des améliorations de cette technique telles que la diminution de la taille des particules ou la régularisation de la phase stationnaire, amènent à parler aujourd'hui de chromatographie liquide haute performance. Les colonnes sont en général faites de silice et le terme C18 correspond à un greffage d'une chaîne carbonée de 18 carbones sur le gel de silice. Le paramètre qui les différencie est le diamètre des pores. La phase mobile utilise différents solvants organiques dont le but est de désorber la molécule d'intérêt de la colonne. Le temps auquel la molécule d'intérêt se décroche de la colonne et passe dans les systèmes d'analyse correspond au temps de rétention (T_r) qui est une caractéristique propre à chacun. En sortie de colonne, les différentes molécules sont caractérisées par différents détecteurs, principalement un détecteur UV couplé à un détecteur radiométrique, ce qui donne deux spectres de pics appelés chromatogrammes. Cette technique permet d'obtenir des résultats avec une résolution élevée.

La validation des méthodes associées à la CLHP est conseillée avant toute utilisation en routine et elle est rendue obligatoire pour les médicaments expérimentaux. Une étude s'est intéressée à l'interprétation des chromatogrammes obtenus dans des essais multicentriques. Malgré une standardisation des étapes de préparation, les centres ont rarement les mêmes systèmes de chromatographie et de détection. L'étude souligne que certains facteurs affectent la valeur finale de la PRC tels que les niveaux de rayonnement de fond spécifiques au site, les propriétés intrinsèques du système (bruit de fond et sensibilité) ou l'interprétation personnelle (62). Il est rapporté que le manque de validation inter-centres et de standardisation dans la détermination de la PRC rend les résultats plutôt arbitraires. Pour des essais multicentriques, l'étude conclut qu'une plage de PRC déterminée localement comme critère de libération est préférée et recommandée.

En pratique, le système de CLHP est un équipement partiellement présent dans les services de radiopharmacie du fait de son coût et de l'espace nécessaire à son installation.

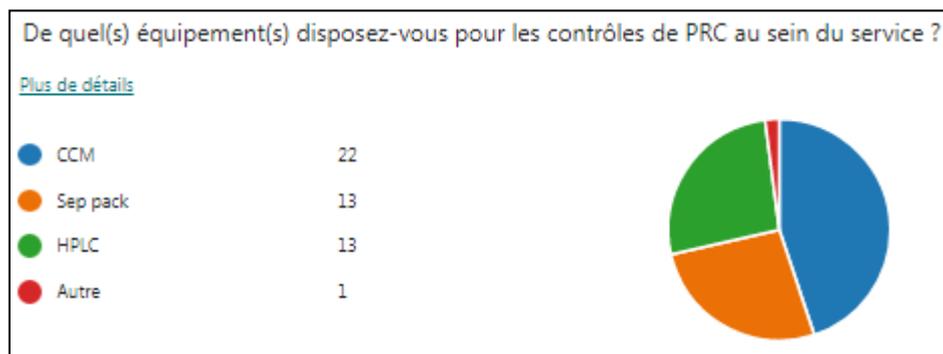


Figure 22 : réponse au sondage concernant l'équipement à disposition des services de radiopharmacie

Sur l'ensemble des services de radiopharmacie interrogés en avril 2022 (figure 22), seuls les CHU ou CLCC disposent d'une chaîne CLHP interrogés (n=13/22). De plus, cette technique est généralement chronophage par rapport à l'organisation d'un service de médecine nucléaire pour permettre l'obtention de résultats avant libération. Certaines monographies de la PE utilisent la CLHP comme méthode de référence mais face à l'impossibilité des radiopharmaciens à la mettre en œuvre, les fabricants proposent dans leur RCP d'autres méthodes plus adaptées.

3.2 Extraction liquide-solide

Une méthode alternative, illustrée par la figure ci-dessous, basée sur l'extraction liquide-solide a été développée par Mallinckrodt® et acceptée par les autorités. Selon notre sondage, cette technique est partiellement utilisée par les services de radiopharmacie (n=13/22). Le principe consiste à injecter un petit volume de préparation à tester dans une cartouche SEP-Pak® C18 puis les solvants dans un ordre défini pour en récupérer les éluats. Les activités des éluats et de la cartouche sont mesurées pour en déterminer la PRC (figure 23). Cette méthode ne fournit qu'une indication quantitative quant au pourcentage d'impuretés présentes alors que la technique par chromatographie apporte des informations supplémentaires (aspect de la courbe, distances de migration, séparation des pics...).

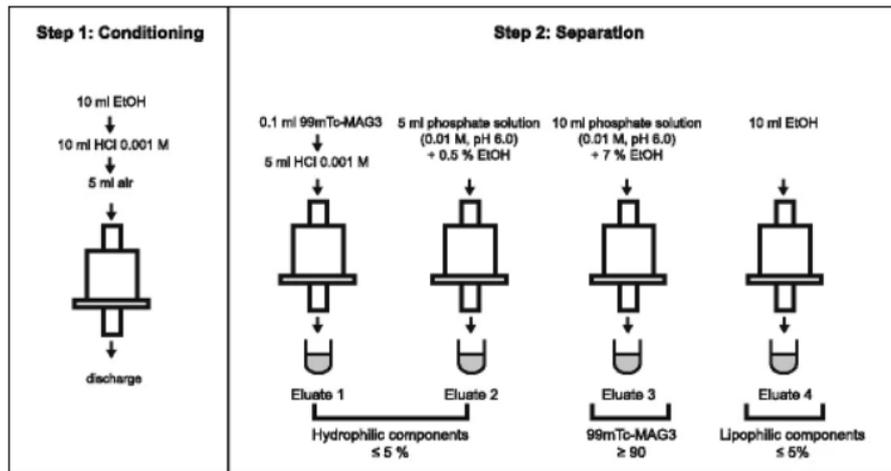


Figure 23 : illustration du fabricant Mallinckrodt® pour la détermination de la PRC de la trousse MAG3 (version 2003) (37)

Destinée à être plus adaptée, cette méthode est cependant sujette à quelques préoccupations notamment sur sa précision en pratique courante. Les résultats se sont avérés dépendants de l'opérateur en raison de l'influence des variations de la vitesse d'éluion (63). Il serait également pertinent de s'interroger sur la fiabilité des mesures d'activité des cartouches issues des activimètres calibrés initialement pour des flacons ou seringues, en particulier pour les préparations de faible activité volumique. Par ailleurs, il existe un risque de contamination et d'exposition des extrémités non négligeable.

3.3 Chromatographie sur couche mince (CCM)

La CCM est la technique chromatographique la plus couramment utilisée dans les services de radiopharmacie. Elle consiste à déposer un échantillon sur une phase stationnaire placée dans une cuve saturée contenant une phase mobile permettant la migration du dépôt (figure 24). Par rapport à la CLHP, la CCM présente l'avantage que toute la radioactivité appliquée est détectée et qu'il n'y a aucun problème de récupération (séquestration au niveau de la colonne). Il convient toutefois de tenir compte du potentiel volatiles des composés (64).

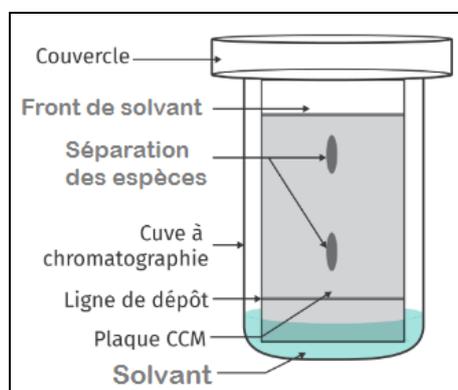


Figure 24 : schéma d'un système de chromatographie sur couche mince

❖ Phase stationnaire

On parle de chromatographie sur papier lorsque la phase stationnaire est du papier de cellulose. Historiquement il était employé la chromatographie sur papier de type Whatman®. Plus récemment, le développement de nouvelles phases stationnaires ont permis d'exploiter l'*instant thin layer chromatography* (ITLC). La compagnie Gelman® a mis au point un support en fibre de verre imprégné d'un adsorbant en gel de silice (ITLC-SG) ou d'acide silique (ITLC-SA) qui ont permis d'obtenir des résultats plus rapides avec une résolution similaire à la chromatographie sur papier (47). Le papier ITLC-SA a été utilisé lorsque le papier ITLC-SG a subi des problèmes d'approvisionnement ; il est satisfaisant dans la séparation des pics avec certains solvants mais le temps de migration est 2 à 3 fois plus long (65). La silice présente des groupes polaires permettant les interactions entre l'adsorbant, la phase mobile et l'échantillon analysé.

❖ Phase mobile

La phase mobile est un solvant ou mélange de solvants dans lequel est plongée la phase stationnaire. Le choix de la phase mobile est fonction de la solubilité des espèces chimiques à séparer selon la polarité et la force d'éluion du solvant. Les tableaux ci-dessous (figure 25 et 26) permettent d'identifier le caractère miscible entre deux solvants en cas de mélange ainsi que leur force d'éluion selon le groupe de solvants. La connaissance de certaines propriétés du solvant tels sa miscibilité à l'eau, sa constante d'acidité, sa constante diélectrique, son moment dipolaire, sa densité, sa volatilité ainsi que sa toxicité permettront le choix du solvant, seul ou en mélange, pour l'extraction d'une substance donnée (66).

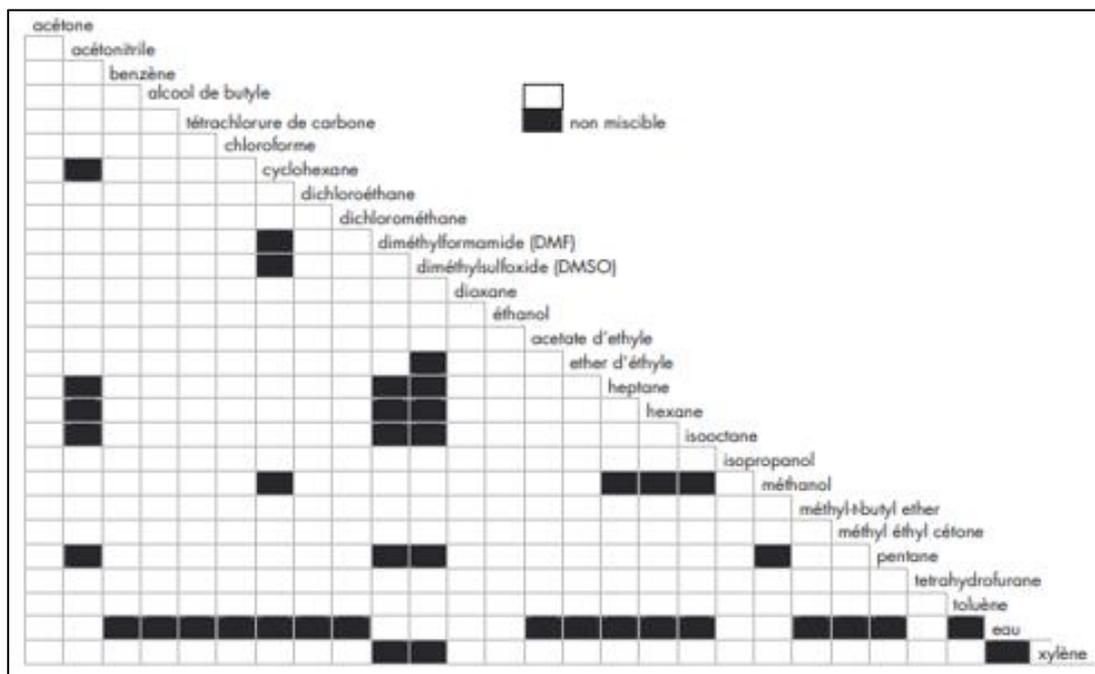


Figure 25 : tableau de miscibilité des solvants (66)

Groupe de sélectivité	Solvant	Force d'élution
Diluants	<i>n</i> -hexane	0
	<i>n</i> -heptane	0
	Cyclohexane	0
Groupe I	Éther de <i>n</i> -butyle	2,1
	Éther de diisopropyle	2,4
	Éther de méthyl et tertibutyle (MTBE)	2,7
	Éther diéthylique	2,8
Groupe II	Butan-1-ol	3,9
	Propan-2-ol	3,9
	Propan-1-ol	4,0
	Éthanol	4,3
	Méthanol	5,1
Groupe III	Tétrahydrofurane (THF)	4,0
	Pyridine	5,3
	Méthoxyéthanol	5,5
	Diméthylformamide (DMF)	6,4
Groupe IV	Acide acétique	6,0
	Formamide	9,6
Groupe V	Dichlorométhane	3,5
	1,2-dichloroéthane	3,5
Groupe VI	Acétate d'éthyle	4,4
	Butanone (méthyléthylcétone, MEK)	4,7
	Dioxane	4,8
	Acétone	5,1
	Acétonitrile	5,8
Groupe VII	Toluène	2,4
	Benzène	2,7
	Nitrobenzène	4,4
Groupe VIII	Chloroforme	4,1
	Nitrométhane	6,0
	Eau	10,2

Figure 26 : classification des solvants par groupe de sélectivité, toxicité et force d'élution (67)

Lors de la mise au point d'une CCM dans le but de séparer deux espèces chimiques, il est recommandé dans un premier temps de tester un solvant pur de chaque groupe de sélectivité. Si celui-ci permet de séparer les impuretés du complexe d'intérêt, la méthode peut être validée. Dans le cas contraire, il sera envisagé l'ajout d'un autre solvant à force d'élution adaptée selon les R_f obtenus (67). Nous proposons ci-dessous un diagramme décisionnel pour le choix de solvants lors de la mise au point d'une CCM (Figure 27).

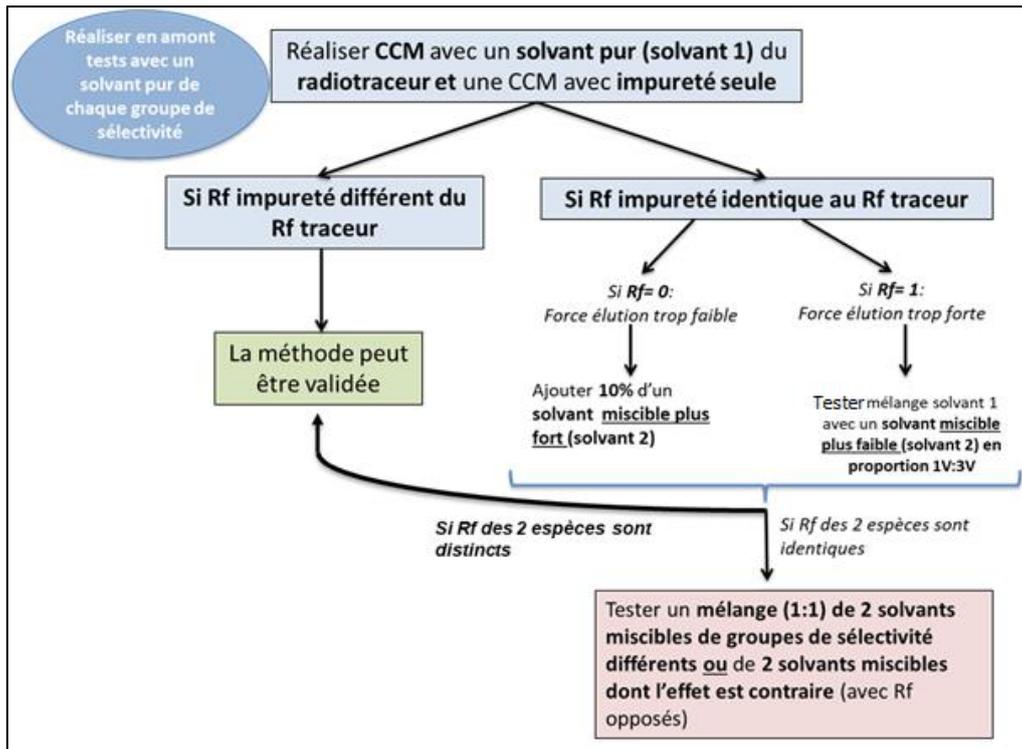


Figure 27 : proposition d'un diagramme de choix de solvants pour CCM

Concernant la migration du TcO_4^- , celle-ci dépend entre autres de la solubilité des anions dans le solvant. Les phases mobiles les plus couramment utilisées pour l'évaluation de la PRC des PRP technétées sont le NaCl à 0.9% et le méthyléthylcétone (MEK) qui a progressivement remplacé l'acétone. Par exemple, comme l'indique la figure 28 ci-dessous, le support ITLC-SG permet d'isoler le TcO_4^- au front de solvant avec des solvants organiques (MEK) par rapport au TcR et $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -complexe qui restent à l'origine. Pour isoler le TcR, il sera préféré du NaCl qui fera migrer le TcO_4^- et la plupart des $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -complexes d'intérêt.

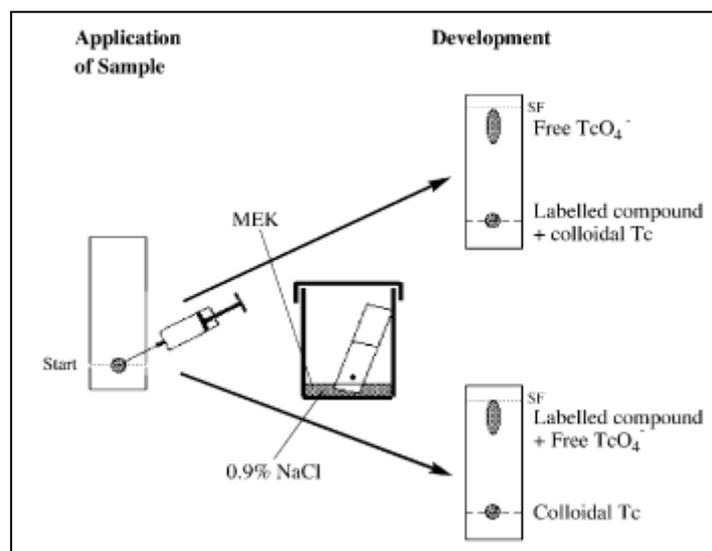


Figure 28 : influence de la phase mobile (68)

❖ Migration

Le solvant migre par capillarité puis les composés sont séparés en fonction de leurs interactions avec la phase stationnaire et la phase mobile. Lorsque le solvant a migré sur la ligne de front, le facteur de rétention (R_f) est calculé. Il correspond à la distance parcourue par le composé d'intérêt par rapport à la distance parcourue par le solvant. Pour un solvant et une phase stationnaire donnés, chaque composé aura un facteur de rétention caractéristique selon son adsorption, sa solubilité et sa charge (68). Ce R_f est utilisé pour détecter, identifier et quantifier les espèces chimiques d'une préparation : principalement le technétium libre, le technétium réduit hydrolysé et le complexe radiomarqué d'intérêt dont on veut connaître la PRC.

La distance de migration varie selon les méthodes généralement de 5 à 15cm et dépend du nombre de composants à séparer, des propriétés de rétention relative ainsi que du temps nécessaire à la migration.

❖ Lecture CCM

Dans le cas d'une espèce radioactive, un détecteur de radioactivité permet de compter la radioactivité. Cette méthode permet d'identifier 2 ou plusieurs espèces mais qu'avec quelques possibilités : migration partielle, totale ou absence de migration, contrairement à la CLHP plus précise. Généralement pour identifier plus de 2 espèces, il est employé 2 systèmes de CCM.

La lecture se fait habituellement avec un radiochromatographe comme illustré par la figure 29 ci-dessous. Il détecte, en tout point, les photons γ émis (de 140 KeV pour les préparations technétiées) le long de la bande CCM après migration et permet donc de savoir d'où sont émis les rayonnements. La PRC est quantifiée grâce au rapport des aires sous la courbe de chaque pic après avoir sélectionné le bruit de fond entre les pics bien séparés. Le détecteur du radiochromatographe doit présenter une sensibilité et une résolution spatiale suffisante pour les mesures discriminatoires et quantitatives attendues. Une maintenance est régulièrement effectuée selon les préconisations du fabricant.

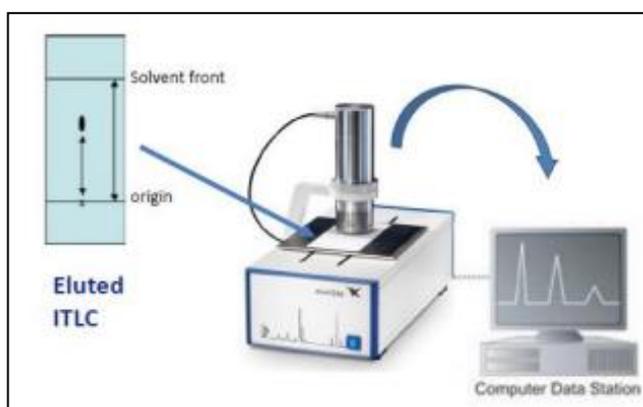


Figure 29 : principe du radiochromatographe (69)

L'utilisation de la gamma caméra peut également convenir en effectuant une quantification à partir du logiciel d'imagerie de la phase stationnaire après migration (figure 30).

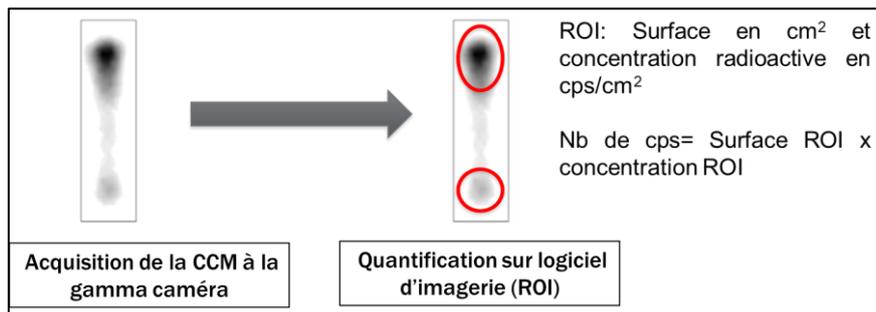


Figure 30 : évaluation de la PRC par gamma caméra

Enfin, il est aussi possible de calculer la PRC par mesure de la radioactivité avec un activimètre ou un radiamètre en effectuant des découpes de la bande à CCM (figure 31). L'activimètre est toutefois moins précis sur les bandes à faible activité et peut entraîner une surestimation des impuretés (70). De plus, tout comme la méthode SEP-Pak[®], il n'est pas possible d'obtenir un aspect des pics mais seulement une valeur brute de l'activité.

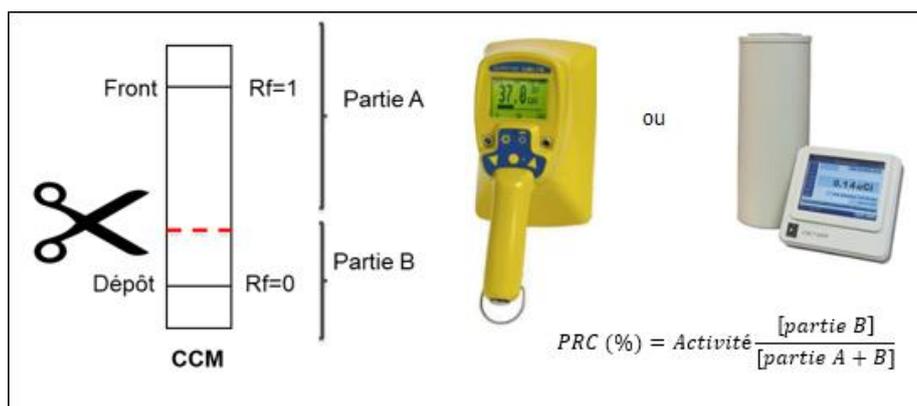


Figure 31 : exemple d'évaluation de PRC d'un complexe qui reste au dépôt par découpe de la phase stationnaire et mesure de la radioactivité

PARTIE 2 : Pureté radiochimique des PRP technétées par chromatographie sur couche mince

1. Référentiels

En radiopharmacie les moyens de contrôle doivent être rapides et précis. Pour le contrôle de la PRC, la CCM est utilisée par tous les centres selon notre sondage. Les méthodes et les résultats attendus sont relatés et mis à disposition du radiopharmacien : les monographies de la PE et les RCP des radiopharmaceutiques sont les méthodes de référence. Les méthodes RCP des trousse actuellement commercialisées sont listées en **Annexe I**. Avant l'arrivée des RCP, les travaux de Zimmer et Pavel ont été une référence pour les méthodes chromatographiques miniaturisées des trousse commercialisées (71) puis d'autres guides ont vu le jour avec l'apparition de nouvelles trousse. Le tableau ci-dessous liste les guides existants classés par ordre chronologique de parution.

Tableau 2 : liste de différents guides relatifs aux contrôles de qualité

Auteurs	Date	Titre
Zimmer et Pavel	1977 (71)	<i>Rapid miniaturized chromatographic quality-control procedures for Tc-99m radiopharmaceuticals</i>
Zolle	2007	<i>Technetium-99m Pharmaceuticals Preparation and Quality Control in Nuclear Medicine (Chapters 9 and 12)</i>
IAEA	2008 (17)	<i>Technetium-99m radiopharmaceuticals : manufacture of kits</i>
Barbier	2009 (2 ^{nde} éd.)	Les radiopharmaceutiques – Guide pratique du contrôle de qualité en radiopharmacie
Sampson	2010 (4 ^{ème} éd.) 1994 (2 ^{ème} éd.) (47)	<i>Sampson's Textbook of Radiopharmacy: Theory and Practice Chap. 9 "Quality control of radiopharmaceuticals"</i>
Zimmer	2011 1998 (72)	<i>Miniaturized chromatography procedures for radiopharmaceuticals : 2011 update</i>
CNHIM	2013 (3 ^{ème} éd.)	Médicaments radiopharmaceutiques et dispositifs médicaux implantables radioactifs

Le guide de l'EANM relatif aux bonnes pratiques de préparation admet toutefois que les méthodes de la PE ne permettent pas toujours l'obtention des résultats des contrôles avant libération et utilisation en clinique (4). Par ailleurs, ce guide indique que pour tout écart relatif à la procédure de radiomarquage du fabricant, la qualité du radiomarquage doit être vérifiée. Les référentiels laissent donc la possibilité d'appliquer des méthodes alternatives mais ces dernières doivent être validées. Il existe parfois de nombreuses méthodes alternatives dans la littérature pour un contrôle de PRC d'une trousse donnée ce qui peut compliquer le choix, ce d'autant que la méthodologie de validation diffère d'une étude à l'autre. Ce point sera abordé en dernière partie.

2. Facteurs pouvant influencer les résultats des CCM

L'appréciation des différentes méthodes de CCM passe notamment par la connaissance et maîtrise de la technique employée. Dans cette partie nous verrons qu'il existe un certain nombre de facteurs qui peuvent influencer les résultats d'une CCM. Par exemple, la nature de la phase stationnaire, son épaisseur, le type de solvant et sa composition, les différentes étapes du mode opératoire peuvent aussi être à l'origine de variabilités inter- et/ou intra-individuelle.

2.1 Phase stationnaire

❖ Nature de la phase stationnaire

Selon la nature et composition des phases stationnaires, ces dernières n'ont pas les mêmes capacités de séparation. Pour une même phase mobile, le comportement de l'échantillon diffère selon la phase stationnaire utilisée (Figure 32).

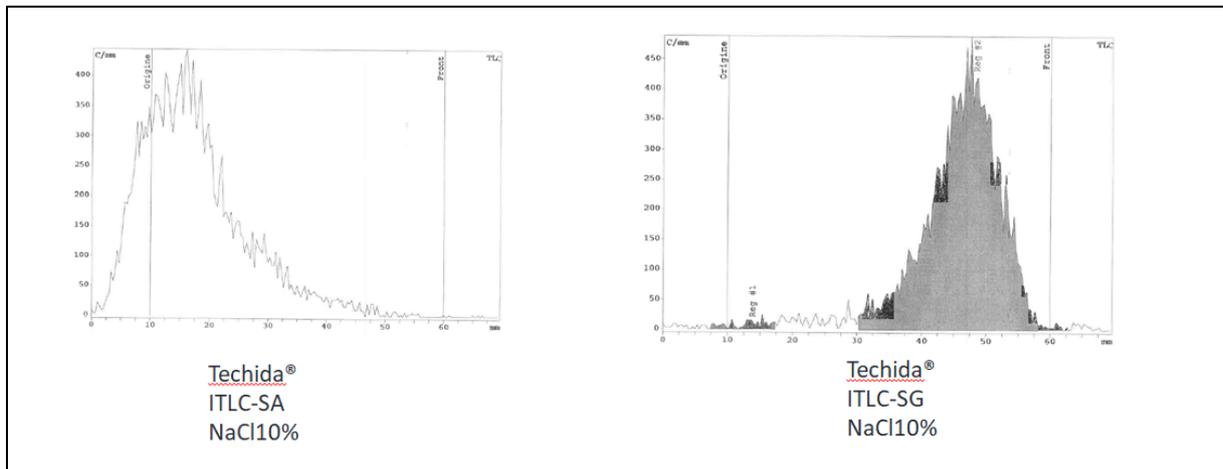


Figure 32 : exemple de radiochromatogrammes obtenus avec un même solvant sur des supports différents

Selon les fournisseurs, il existe des supports à découper ou des bandelettes prédécoupées. La nature de certaines bandelettes prédécoupées telles que les bandelettes Biodex® n'est parfois pas clairement indiqué. Le tableau ci-dessous rappelle les correspondances qu'il est utile de connaître.

Tableau 3 : quelques équivalences de phases stationnaires (72,73)

Bandelette Biodex (référence)	Nature papier (épaisseur)	Solvants nécessaires	Trousses
<i>Red Strips (150-001)</i>	Whatman31ET (0.5mm)	Acétone	HMDP, DTPA, TcR, Pyrophosphate, MAA, Sulfur-colloïde,
<i>Black Strips (150-005)</i>	ITLC-SG	Eau ou NaCl0.9%	DTPA, HMDP, pyrophosphate
<i>Yellow Strips (150-025)</i>	ITLC-SA	Acétone	DMSA
<i>Gold Strips (150-130)</i>	Whatman 17CHR (0.92mm)	Acétate d'éthyle 99%	Examétazime (Ceretek®), Biscate (Neurolite®)
<i>Teal Strips (150-971)</i>	Whatman 1CHR (0.18mm)	Acétate d'éthyle 99%	Tétrofosmin (Myoview®)
<i>Pink Strips (150-991) 8cm</i>	Whatman 31ET	Acétate d'éthyle 99%	Sestamibi (Stamicis®)
<i>Dark Green Strips (150-771)</i>	ITLC-SG	NaCl 0.9%	^{99m} Tc-anticorps monoclonal
<i>Light Blue Strips (150-125)</i>	ITLC-SG	Eau	Mébrofénine (Cholediam®)
<i>Orange Strips (150-122)</i>	ITLC-SA	NaCl 20%	Mébrofénine (Cholediam®)
<i>Lime Strips (150-951)</i>	Papier de cellulose Gelman®	Acétone, chloroforme, tétrahydrofurane	Mertiatide (MAG-3)
<i>Peach Strips (150-952)</i>	Papier de cellulose Gelman®	NaCl 0.9%	Mertiatide (MAG-3)

Par ailleurs, la face de la phase stationnaire a son importance. Par exemple, pour le support ITLC-SA, les bandelettes prédécoupées Biodex® identifie clairement la face sur laquelle doit se faire le dépôt contrairement aux plaques à découper. La composition des supports ITLC étant différente d'une face à l'autre, cela peut induire une différence de valeurs de PRC si le dépôt n'est pas réalisé sur la face lisse (figure 33).

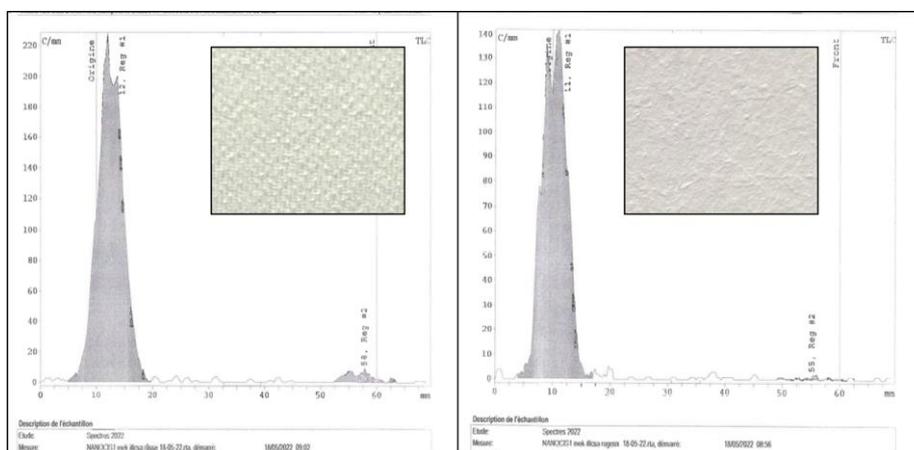


Figure 33 : exemple de radiochromatogrammes de Nanocis® obtenus avec le support ITLC-SA avec un dépôt sur la face « lisse » (gauche) (PRC = 96.9) versus l'autre face (PRC = 99.8) (droite)

❖ Épaisseur de la phase stationnaire

La gamme de papier Whatman® présente différentes épaisseurs. Le papier Whatman 1CHR® est trop fin (0.18mm) pour permettre le maintien de la phase stationnaire au cours de la migration du solvant. Il faut utiliser un système de fixation pour éviter que le papier ne s'affaisse et se plaque à la paroi, ce qui pourrait impacter la migration des composés. Les autres papiers Whatman® plus épais présentent également l'avantage d'augmenter la capacité d'absorption de l'échantillon et limiter ainsi le phénomène d'étalement au niveau du dépôt. Par exemple, Le papier Whatman 31ET® (0.5mm) a permis une migration plus rapide des solvants mais au détriment de la résolution (figure 34 B) par rapport à un papier Whatman 17CHR® (0.92mm) (figure 34 A) (47). L'épaisseur du papier peut également avoir une influence sur le temps de séchage et donc sur la migration des composés pour les CCM qui y sont sensibles. Par exemple, c'est le cas de la méthode CCM utilisée pour le sestamibi sur papier de cellulose avec acétate d'éthyle qui nécessite une étape de séchage du dépôt avant migration (figure 35). La figure 36 illustre un autre exemple à l'aide d'un échantillon coloré.

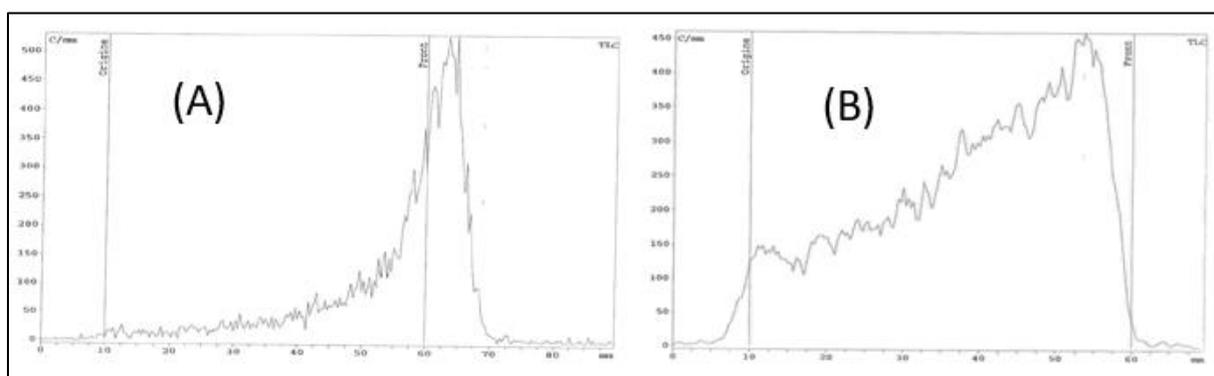


Figure 34 : exemple de radiochromatogrammes obtenus avec la trousse Osteocis® à partir d'un papier Whatman 17CHR (A) et Whatman 31ET (B) avec un solvant NaCl 0.9%

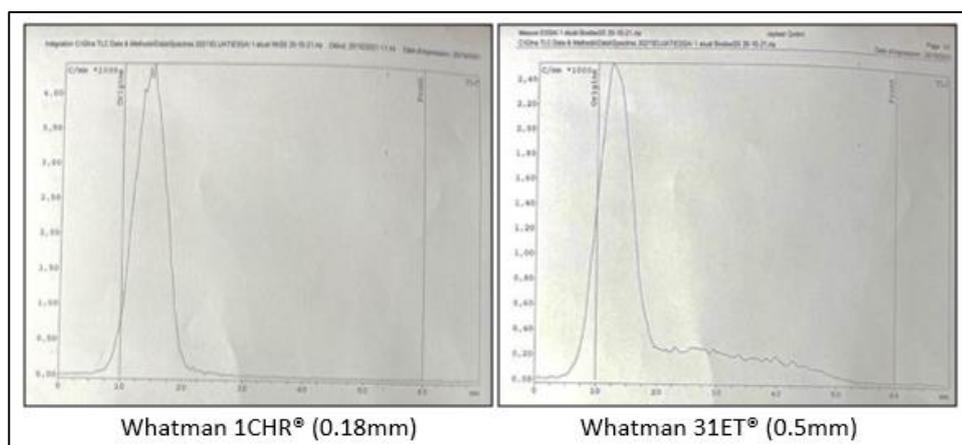


Figure 35 : exemple de radiochromatogrammes obtenus avec l'éluat à partir de papier Whatman 1CHR (gauche) et Whatman 31ET (droite) avec un solvant acétate d'éthyle

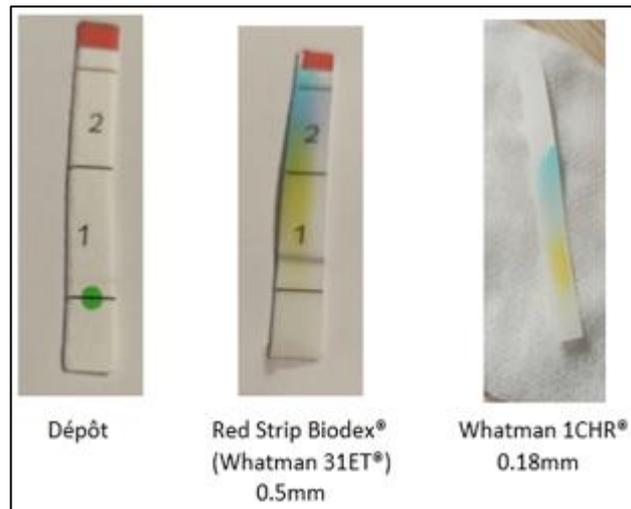


Figure 36 : illustration de la séparation des pigments jaune et bleu d'un colorant vert obtenu par CCM avec un mélange éthanol/NaCl 0.9% (80 :20) dont la séparation est plus franche avec le papier Whatman 1 CHR®

2.2 Phase mobile

Comme vu précédemment (paragraphe 3.3) la nature des solvants utilisés, leur miscibilité ainsi que leur force d'éluion vont jouer un rôle très important dans les résultats obtenus. La concentration d'un même solvant peut également influencer sur la séparation des composants (figure 37), par exemple certaines méthodes RCP préconisent du NaCl à 10% et non à 0.9%.

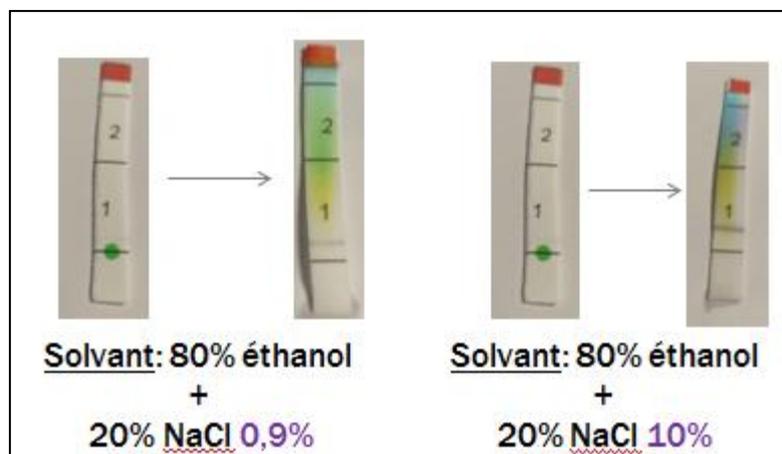


Figure 37 : influence de la concentration d'un solvant, le NaCl à 0.9% ne permet pas une bonne séparation des pigments jaune et bleu du colorant vert en comparaison avec le NaCl à 10%

D'autres facteurs liés à la phase mobile peuvent influencer sur les résultats des CCM. Ainsi, la présence d'eau dans l'acétone, liée au mauvais séchage de la cuve par exemple, augmenterait artificiellement les valeurs du $T_{CO_4^-}$ (74).

2.3 Mode opératoire

❖ Volume de solvant

Le niveau de solvant versé dans la cuve ne doit pas dépasser la ligne de dépôt (figure 24) au risque que le dépôt plongé dans le solvant ne migre pas, ce qui pourrait fausser les résultats de la CCM.

❖ Mélange de solvants

Certaines méthodes proposent des mélanges de solvants. Il est important de procéder au mélange de façon extemporanée car les vitesses d'évaporation sont différentes d'un solvant à l'autre (Tableau 4). L'évaporation des solvants peut influencer sur les propriétés séparatives du système chromatographique (Figure 38) (75).

Tableau 4 : solubilité, polarité et indice d'évaporation des solvants selon les fiches de l'INRS

Solvants	Solubilité	Polarité	Indice d'évaporation (par rapport à l'éther éthylique =1)
Acétate d'éthyle	Modérément soluble dans l'eau (8,7g/100mL à 20°C)	Polarité moyenne	2,9
Acétone	Totalement miscible à l'eau et de nombreux solvants organiques (éthanol et ac. éthyle)	Polaire	1.9
Ethanol	Miscible à l'eau (dégagement de chaleur)	Polaire	8.3
Dichlorométhane	Peu soluble dans l'eau (13 à 20g/100mL à 20°C)		1.8
Méthanol	Miscible à l'eau, l'acétone et de nombreux solvants organiques (dégagement de chaleur)	Polaire	6.3
Acétate de sodium 0.1M	Miscible à l'eau		
MEK	Très soluble dans l'eau (26,8% à 20°C)	Polarité moyenne	2.7
NaCl	Très soluble dans l'eau (35,9% à 20°C)	Polaire	
Tétrahydrofurane	Miscible à l'eau		2.3

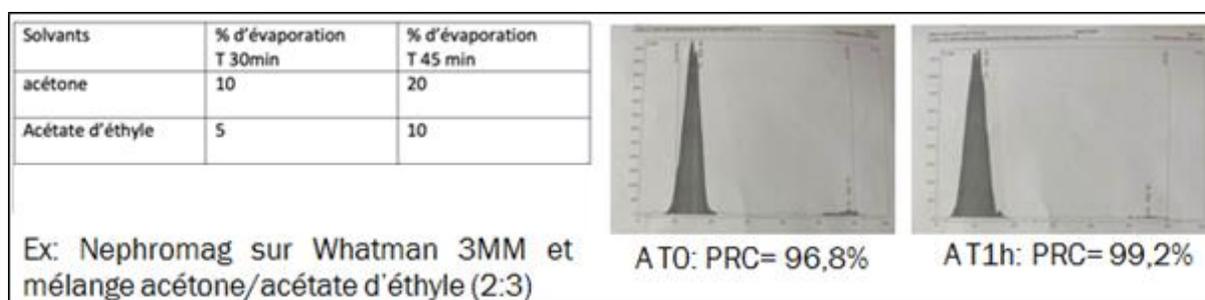


Figure 38 : influence du temps d'évaporation de la phase mobile sur les résultats de PRC du Nephromag®

Par ailleurs, il est important de respecter les proportions du mélange car cela peut influencer sur la migration (Rf) et donc les résultats notamment si l'analyse de la radioactivité se fait par découpage de

la plaque. Des variations de la composition du mélange de solvants pour mesurer la PRC du Myoview® ont été testés selon la méthode RCP de 1995. Les résultats montrent qu'une composition de dichlorométhane/acétone (70:30) réduit le Rf de la tétrofosmine marquée à 0.4 et surestime le Tc réduit, à l'inverse une composition (60:40) allonge le Rf du complexe à 0.75 et surestime TcO_4^- (76).

❖ Distance de migration

Pour repérer plus facilement la ligne de front au cours de la migration, il est possible de s'aider d'une marque colorée qui ne doit pas interférer avec l'échantillon.

Certaines méthodes RCP exigent au moins 15 cm de migration pour une séparation correcte des composants, la figure ci-dessous en est l'illustration. Une distance de migration trop courte (7cm) ne permet pas de distinguer clairement le complexe ^{99m}Tc -tétrofosmine du TcO_4^- libre (figure 39).

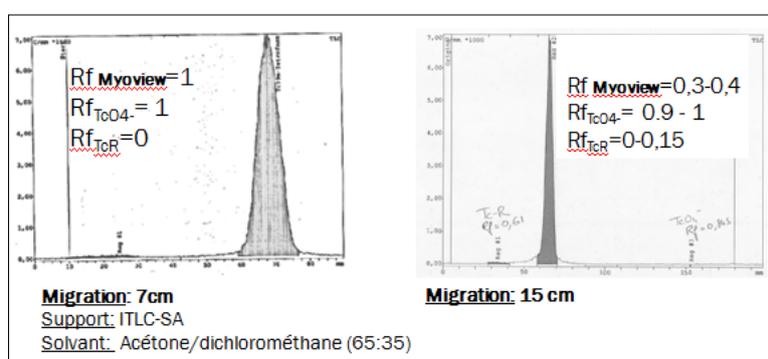


Figure 39: radiochromatogrammes obtenus selon la distance de migration

❖ Temps de migration

Le temps de migration peut également influencer la valeur de PRC alors même que le solvant a atteint le front de solvant. En effet, certaines espèces peuvent migrer plus lentement que le solvant et une lecture trop rapide pourrait alors fausser le résultat de la PRC. Dans l'exemple ci-dessous, la PRC du sestamibi peut être sous-estimée en cas de temps de migration trop court du fait d'une mauvaise résolution des pics malgré une distance de migration identique du solvant (figure 40).

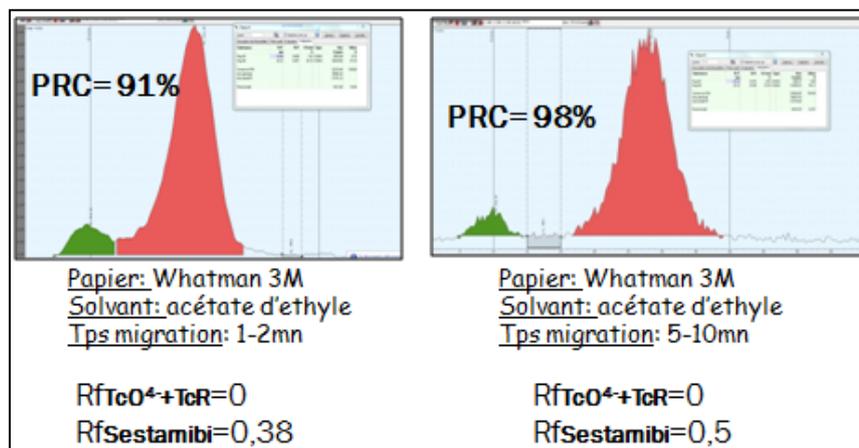


Figure 40 : radiochromatogrammes obtenus selon le temps de migration

❖ Volume du dépôt

Le dépôt de l'échantillon doit être le plus petit possible pour une résolution optimale (Figure 41). Un diamètre de la goutte déposée de moins de 3mm pour une distance de migration de 20 cm serait idéal et proportionnellement plus petit si la distance se réduit (47). Cela est rendu possible par le maintien à la verticale d'une seringue fine (>25 Gauge), le volume de l'échantillon approche les 6 μ L. Le volume peut doubler si la seringue est maintenue à l'horizontal (68). Il est possible d'utiliser une micropipette afin de standardiser le volume mais la manipulation est moins simple.

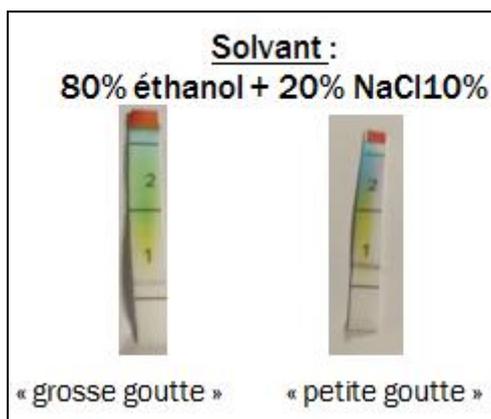


Figure 41 : influence de la taille de la goutte

Par exemple, le RCP du Myoview[®] indique qu'un volume de 10 μ L du dépôt donnera une tâche de 10 mm de diamètre environ sur le papier ITLC-SA et que si le volume de dépôt diffère de ces recommandations alors le fournisseur ne garantit plus d'obtenir des valeurs de PRC fiables. Une autre étude préconise un volume de dépôt de 5 μ L car un volume plus faible (2.5 μ L) diminue la migration du ^{99m}Tc-tétrofosmine et surestime le TcR à l'inverse un volume plus important (10 μ L) risque de surestimer le TcO₄⁻ (76).

❖ Séchage du dépôt

En général, le support doit immédiatement être placé dans la cuve une fois l'échantillon déposé. Le séchage du dépôt peut fausser les résultats à cause de l'oxydation du ^{99m}Tc et/ou la formation de TcO₄⁻ (77). Toutefois, une étape de séchage peut être nécessaire pour les solvants apolaires afin d'assurer une résolution satisfaisante (fixation du TcO₄⁻ à l'origine illustré par la figure 42). Dans ce cas, il faut éviter le séchage par chauffage et préférer le séchage à l'azote ou à l'air libre.

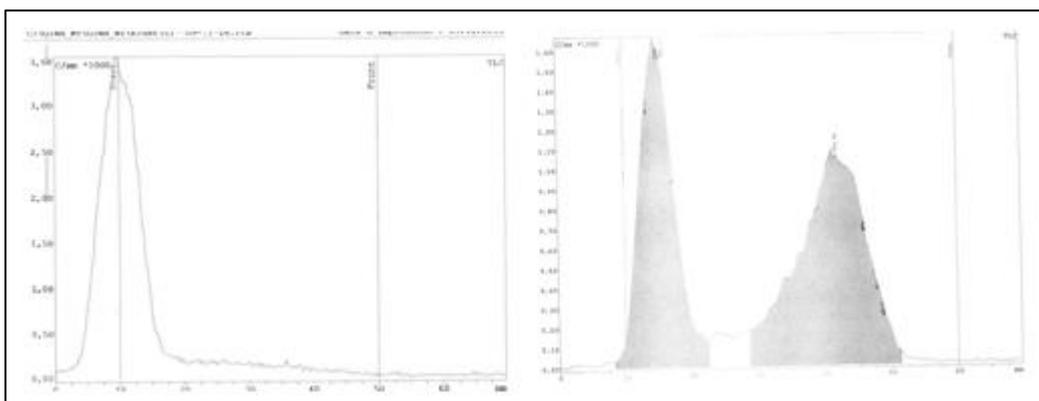


Figure 42 : exemple de radiochromatogrammes obtenus d'un éluat sur papier Whatman 31ET dans l'acétate d'éthyle avec 60 secondes de séchage (gauche) et sans séchage (droite)

3. Facteurs limitant l'utilisation des méthodes RCP

3.1 Manque de matériel

Peu de services de radiopharmacie sont équipés d'une CLHP selon notre sondage (n=13/22). Afin de répondre à cette lacune, les fabricants ont mis au point une procédure rapide simplifiée via l'emploi de cartouches SEP-Pak® mais son utilisation reste aussi limitée au sein des établissements (n=13/22). Par exemple, les méthodes RCP des trousse de Nephromag® et Technescan MAG3® proposent uniquement des méthodes par CLHP ou par cartouches SEP-Pak®.

Au total, les méthodes de CQ de PRC mentionnées dans les RCP font appel à 7 supports chromatographiques et 8 solvants différents (**Annexe I**). Afin d'éviter de multiplier les références à acquérir, la majorité des services privilégieront une méthode alternative utilisant du matériel déjà en leur possession.

Par ailleurs, l'utilisation de solvants organiques (comme le MEK) peut requérir une étape de séchage de la plaque pendant 10 à 20 minutes à 110°C puisque les propriétés séparatives du gel de silice dépend de sa concentration en eau (78). Ainsi, certains RCP préconisent cette étape de séchage avec les trousse Techida®, Pentacis®, Technescan DTPA® et Teceos®. Or, il n'est pas clairement précisé quel équipement est nécessaire au séchage préalable de ces plaques. Selon les résultats de notre sondage, parmi les services utilisant des méthodes alternatives (n=17), 47% rapportent la complexité de la méthode et 35% évoquent le manque de matériel comme arguments à développer des méthodes alternatives.

3.2 Temps

Selon notre sondage, 71% de ceux qui utilisent des méthodes alternatives rapportent le temps comme argument à développer une méthode alternative. Nous avons également cherché à savoir quel était le temps d'une méthode acceptable : 60% (n= 13/22) considèrent qu'un contrôle de PRC de plus de 10

minutes n'est pas adapté à leur pratique et 40% (n =9/22) placent le seuil à 20 minutes. Si la détermination de la PRC est considérée comme un contrôle libératoire, le temps d'analyse doit être adapté à l'activité. Par exemple, le temps de migration de la méthode RCP du Myoview® est long (>25min) et ne facilite pas une libération avant injection. Idem pour la méthode RCP du sestamibi avec les bandelettes Baker-flex® dans l'éthanol qui nécessite environ 30 minutes.

3.3 Utilisation de solvants toxiques

Certains solvants mentionnés dans les méthodes RCP sont toxiques pour l'utilisateur par l'inhalation notamment le méthanol et le dichlorométhane. Le tableau suivant récapitule les dangers associés à l'utilisation des solvants utilisés.

Tableau 5 : toxicité des différents solvants utilisés en CCM selon les fiches INRS/FDS

Pictogramme	Signification	Solvants
Inflammable 	Peut s'enflammer avec la seule présence d'une étincelle, d'une flamme ou d'une source d'énergie diverse	Acétone, méthylethylcétone, méthanol, éthanol, acétate d'éthyle, tétrahydrofurane
Irritant, Nocif 	Produits qui par inhalation peuvent provoquer une irritation de la peau, des voies respiratoires, une inflammation des yeux. Produits qui par inhalation, ingestion ou pénétration cutanée en petites quantités, peuvent entraîner des problèmes de santé à court ou moyen terme (effets aigus ou chroniques, mort)	Méthyléthylcétone, acétate d'éthyle, acétone, tétrahydrofurane
Danger pour la santé 	Substance peut être allergène, cancérigène, mutagène et peut entraîner une mort fœtale. Elle peut aussi provoquer un dysfonctionnement grave et parfois mortel de certains organes internes	Méthanol, dichlorométhane, tétrahydrofurane
Toxique 	Substance pouvant causer des dommages à l'organisme en cas d'ingestion ou d'inhalation	Méthanol

Les bonnes pratiques rappellent que l'utilisation des solvants doit être réalisée à l'aide d'une sorbonne et le stockage des solvants dans une armoire ventilée. Toutefois, dans la cartographie des risques du personnel de radiopharmacie il faudra prendre en compte le risque de dysfonctionnement de la sorbonne et le risque d'épandage qui nécessite la mise à disposition de masques à cartouche pour les solvants les plus toxiques et volatiles. De plus, l'élimination des solvants doit être prise en compte. C'est pour toutes ces raisons que 6 des 22 services sondés indiquent avoir choisi une méthode alternative aux RCP afin d'éviter la manipulation de solvants toxiques.

3.4 Impuretés non détectées par la méthode RCP

Les méthodes RCP mettent en évidence à minima le TcO_4^- libre et parfois le TcO_2 . Dans quelques cas les RCP mentionnent également des méthodes permettant de mettre en évidence des complexes secondaires. Les méthodes RCP ne permettent donc pas de mettre en évidence systématiquement toutes les impuretés présentes à la différence de certaines méthodes alternatives publiées.

L'exemple le plus marquant est celui des complexes ^{99m}Tc -isonitrile pouvant se former au cours du radiomarquage du sestamibi à partir d'un premier éluat issu d'un générateur à colonne humide comme évoqué précédemment. La méthode RCP (MIBI strip/éthanol) ne met pas en évidence cette impureté. Une méthode alternative par CCM (Whatman®/acétate d'éthyle) avec séchage du dépôt permet de visualiser cette impureté et la fraction libre TcO_4^- (figure 43).

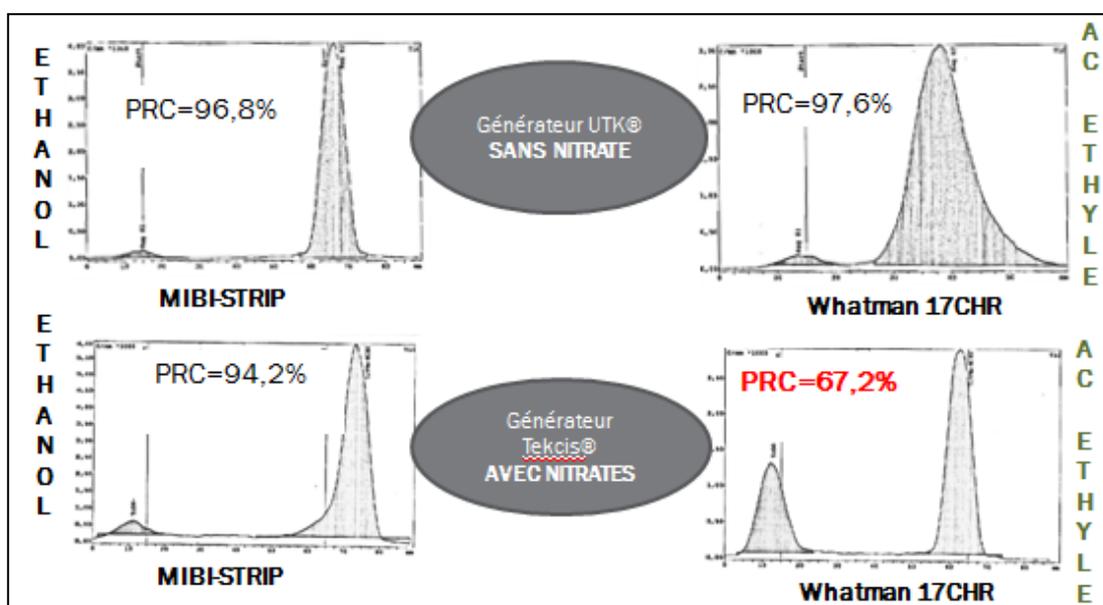


Figure 43 : influence de l'éluat sur le radiomarquage et comparaison des méthodes de PRC

3.5 Variabilités intra et interindividuelles

Certaines méthodes par CCM émanant des RCP telles que celle du Myoview® présente des résultats variables en fonction de l'opérateur ou de l'application du mode opératoire. De nombreux facteurs peuvent expliquer cette variabilité : le volume de dépôt, la composition du mélange, le séchage (79) mais aussi le temps ou la distance de migration. Il est important que l'ensemble de ces paramètres soient abordés et maîtrisés lors de la formation aux CQ. Ainsi, pour la même méthode RCP du Myoview®, les résultats ci-dessous diffèrent selon l'opérateur comme illustré ci-dessous (figure 44).

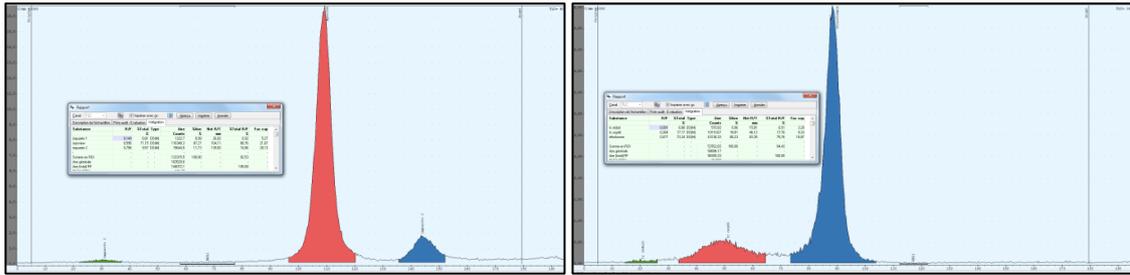


Figure 44 : résultats obtenus par deux opérateurs en appliquant la méthode RCP du Myoview®

En résumé, malgré une technique chromatographique qui semble simple de prime abord, tout un ensemble de paramètres est à prendre en compte dans l'application quotidienne des CQ de PRC. Pour toutes les raisons détaillées précédemment, nous pouvons constater que les méthodes de référence pour certaines trouses ne sont pas adaptées à la pratique courante ou manque de fiabilité et de précision. C'est pour toutes ces raisons que de nombreuses équipes ont mis au point des méthodes alternatives.

4. Méthodes alternatives

Des méthodes alternatives à celles des RCP ont été développées soit à partir de guides ou de publications, soit en réalisant des études internes. Le sondage nous a permis d'identifier les principales trouses qui bénéficiaient de méthodes alternatives et quelles en étaient les raisons.

Selon notre sondage, 77% des services (n =17/22) utilisent des méthodes alternatives aux méthodes RCP avec le détail par trousse ci-dessous (figure 45).

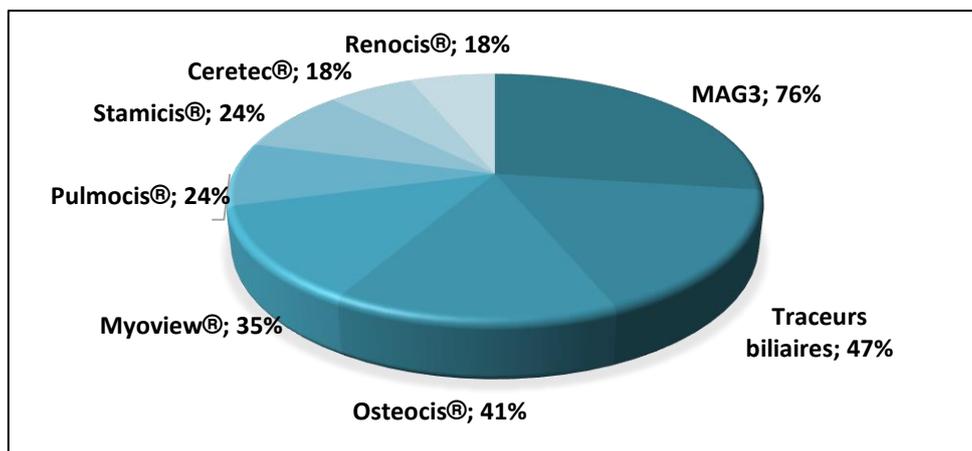


Figure 45 : Répartition des trouses pour lesquelles une méthode alternative est appliquée parmi les services n'utilisant pas systématiquement la méthode RCP selon notre sondage

Nous avons donc recensé les méthodes alternatives publiées dans la littérature en s'intéressant principalement à ces trouses. Pour chaque trousse abordée, nous rappellerons les impuretés existantes, les limites des méthodes RCP et nous citerons des méthodes alternatives publiées dans la littérature qui nous semble plus adaptées que les méthodes RCP.

4.1 Traceurs rénaux

❖ Limites de la méthode RCP des troussees à base de MAG3

Les méthodes RCP des contrôles de PRC des troussees Nephromag® (mertiatide) et Technescan Mag3® (bétiatide) nécessitent une CLHP. Comme vu précédemment, l'ensemble des services de radiopharmacie ne détiennent pas cet équipement et cette méthode est assez longue à mettre en œuvre avant l'obtention des résultats.

❖ Méthodes alternatives pour la PCR des troussees à base de MAG3 (tableau 6)

Des méthodes alternatives par CCM ou par SEP-Pack® existent et permettent de définir la PRC α minima en déterminant le TcO_4^- et le TcO_2 . Le tableau 6 liste quelques-unes des méthodes par CCM.

Tableau 6 : exemples de méthodes alternatives proposées dans la littérature

Références	Système CCM Phase stationnaire (distance)/ Phase mobile/Durée	Impuretés recherchées	Commentaires	Limites
Straub 2018 (37) et Tessaire 2021 (80)	A/ITCL-SG (10cm) Acétate d'éthyle/ MEK (60:40) B/ ITCL-SG (10cm) Ethanol/eau (90:10)	A/ TcO_4^- , ^{99m}Tc -MAG2 B/ TcO_2 , ^{99m}Tc -tartrate, ^{99m}Tc -(MAG3)x PRC=100% -A(%)-B(%) >97%	Spécificité, justesse, robustesse et précision prises en compte	Les plaques doivent être séchées 1h à 110°C et stockées dans un dessiccateur
Chen 1993(38)	A/ ITLC-SG (8cm)/ Acétate d'éthyle/ MEK (60:40) B/ ITLC-SG (8cm)/ Acetonitrile/eau (1 :1)	A/ TcO_4^- (Rf =0.9-1) B/ l'impureté colloïdale ($^{99m}TcO_2$)n (Rf=0)	Comparaison avec CLHP (n=25) r = 0.98782; (t-test, P < 0.05). Paramètres étudiés : influence du % de l'impureté et le volume du dépôt	Dépôt <10 μ L

❖ Limites de la méthode RCP des troussees à base d'acide dimercaptosuccinique (DMSA)

La forme $^{99m}Tc(V)$ -DMSA n'est pas mise en évidence par la méthode décrite dans le RCP du Renocis®. Le $^{99m}Tc(III)$ -DMSA et $^{99m}Tc(V)$ -DMSA restent au dépôt (Rf= 0) avec la méthode RCP (figure 46). Le $^{99m}Tc(V)$ -DMSA qui peut être obtenu par ajout de bicarbonate de sodium et d'oxygène à une préparation de $^{99m}Tc(III)$ -DMSA, peut être distingué de la forme $^{99m}Tc(III)$ -DMSA en réalisant une CCM sur papier Whatman® avec pour solvant du NaCl à 0.9% (Figure 47).

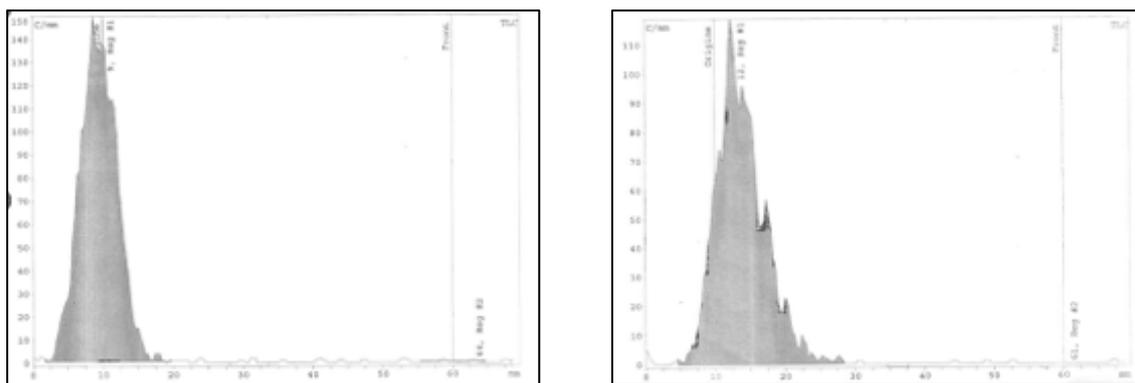


Figure 46 : migration similaire des formes $^{99m}\text{Tc(III)-DMSA}$ (gauche) et $^{99m}\text{Tc(V)-DMSA}$ (droite) selon la méthode RCP

❖ Méthodes alternatives pour la PRC des troussees à base d'acide DMSA (tableau 7)

Tableau 7 : exemple de méthode alternative proposée dans la littérature

Références	Système CCM Phase stationnaire (distance)/ Phase mobile/Durée	Impuretés recherchées	Commentaires	Limites
Garnuszek 2012 (81)	A/ TLC-SG 60/n-propanol/ eau/acide acétique (v/v/v) B/ TLC-SG 60/eau	A/ $^{99m}\text{Tc(V)-DMSA}$, TcO_4^- B/ TcR colloïdal	Pas de distance, durée et méthodes de validation mentionnées	
Moubarik 2012 (82)	Whatman 3MM®/NaCl à 0.9%	$^{99m}\text{Tc(V)-DMSA}$		

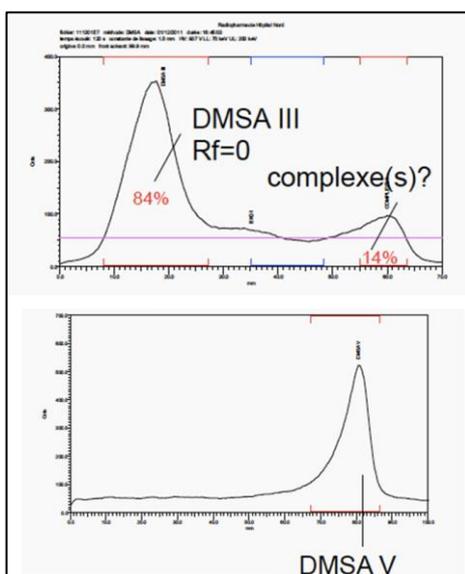


Figure 47 : migration distincte des deux formes de DMSA selon une méthode alternative (82)

Le $^{99m}\text{Tc(III)-DMSA}$ reste au dépôt ($R_f = 0$) alors que le $^{99m}\text{Tc(V)-DMSA}$ migre au front de solvant avec un R_f égal à 1, selon une étude interne réalisée en 2012 au Centre Hospitalier Nord de Marseille (82).

4.2 Traceurs biliaires

❖ Limites de la méthode RCP du Techida®

La méthode RCP utilise une plaque de verre revêtue d'acide silicique fluorescent F254 comme phase stationnaire dont la distance de migration est d'au moins 15cm et préalablement chauffée à 110°C pendant 10 minutes avec du NaCl à 0.9%. Selon le RCP, le ^{99m}Tc colloïdale reste au dépôt, le TcO_4^- migre au front de solvant et le complexe ^{99m}Tc -Hida a un Rf compris entre 0.5 et 0.7. Cette méthode nécessite un support atypique avec conditionnement et migration chronophages.

❖ Méthodes alternatives de PRC (tableau 8)

Tableau 8 : exemple d'une méthode alternative proposée dans la littérature

Références	Système CCM Phase stationnaire (distance)/ Phase mobile/Durée	Impuretés recherchées	Commentaires	Limites
Loberg 1976 (83) et Jovanovic 1981 (84)	ITLC-SA, NaCl 2M	Rf (Tc-HIDA) = 0.2-0.4 Rf(TcO ₄ ⁻) = 0.5-0.6 Rf(TcR) = 0	Pas de distance, durée et méthodes de validation mentionnées.	

4.3 Traceurs osseux

❖ Limites de la méthode RCP de l'Osteocis®

Le RCP propose deux systèmes chromatographiques à partir de papier Whatman 17CHR® pour mettre en évidence les impuretés de la monographie : le TcR isolé avec la migration dans du NaCl à 0.9% et le TcO_4^- isolé avec le mélange méthanol/eau (85:15). Or, le méthanol est un solvant toxique. De plus, la méthode dédiée à la mise en évidence du TcR ne permet pas d'isoler de façon satisfaisante le TcR selon certains auteurs (85,86). Nous nous sommes intéressés aux autres méthodes existantes et le tableau ci-dessous propose un récapitulatif.

❖ Méthodes alternatives de PRC (tableau 9)

Tableau 9 : exemples de méthodes alternatives proposées dans la littérature

Références	Système CCM Phase stationnaire (distance)/ Phase mobile/Durée	Impuretés recherchées	Commentaires	Limites
Zimmer et Pavel (ZP) 1977 (71) et Williams 1981 (87)	A/Whatman 31ET (4cm)/Acetone/30sec B/Gelman® ITLC-SG (4cm)/NaCl 0.9%/45sec Ne pas sécher les dépôts	A/ TcO ₄ ⁻ (Rf=1) B/ TcR (Rf=0) PRC = 100 - A(%) - B(%)	10 mesures par système. La nature du témoin TcR n'est pas précisé	Pour le pyrophosphate et non l'HMDP
Pharmacopée Eur. 2016	A/Papier pour chromatographie (15cm)/ NaCl 0.9% B/TLC-SG/MEK Ne pas sécher les dépôts	A/ TcR sous forme colloïdale (Rf=0) B/ TcO ₄ ⁻ (Rf=1)		Longue (50min)
Fuente 2017 (85)	A/Whatman (7.5cm)/ NaCl 0.9% B/Whatman (7.5cm)/ méthanol/eau (85:15) (=méthode RCP miniaturisée) Temps = 5min au total	A/ TcR sous forme colloïdale (Rf=0) B/ TcO ₄ ⁻ (Rf=1)	- Ajout de ^{99m} Tc-albumine nanocolloïdes pour simuler TcR -Micropipette -30 mesures comparées à la méthode RCP -Intégration manuelle des pics (Rs>1.5) -Précision (10 répétitions) -Test bilatéral non paramétrique et test Fisher (p<0.05)	Migration étalée du ^{99m} Tc-oxidronate (Rf=0.4-1) avec la méthode A ne permettant pas d'isoler correctement le TcR
Borghi 2021 (86)	7 systèmes évalués : ITLC-SG/acétate de Na 2M retenu Temps = 7min	TcR (Rf=0)	3 mesures de PRC par systèmes	Il n'est pas précisé la distance de migration

4.4 Traceurs cardiaques

Les trousseaux capables d'étudier la perfusion myocardique sont considérées comme des radiopharmaceutiques de 2^{ème} génération grâce à l'approfondissement des connaissances sur la relation structure-activité. La synthèse du complexe lipophile ^{99m}Tc-MIBI (ou sestamibi) est obtenue à partir de complexe isonitrile alors que la synthèse de ligands diphosphines en vue de la complexation du noyau ^{99m}Tc ont abouti au développement de la tétrorfosmine (88). Le marquage de la tétrorfosmine ne nécessite pas de chauffage contrairement au marquage du sestamibi. L'étape de chauffage rend le radiomarquage toujours plus sensible et le CQ est d'autant plus important.

❖ Limites de la méthode RCP des trousseaux à base de tétrorfosmine

La méthode RCP du Myoview® est une méthode par CCM avec un support de type ITLC-SA nécessitant une migration d'au moins 15 cm. La phase mobile est un mélange à réaliser de façon extemporanée

d'acétone et dichlorométhane (65 :35). Or, le dichlorométhane est classé parmi les solvants cancérigènes. De plus, la méthode est chronophage avec un temps de migration supérieur à 20 minutes. Par ailleurs, les variations de la composition de la phase mobile ainsi que le volume d'échantillon déposé influent sur les résultats et peut expliquer un manque de reproductibilité de la méthode. Pour toutes ces raisons, la méthode RCP ne nous semble pas satisfaisante et a largement fait l'objet de méthodes alternatives recueillies dans le tableau ci-dessous.

❖ Méthodes alternatives pour la PRC des trousse à base de tétréfostmine

Tableau 10 : méthodes alternatives proposées dans la littérature pour la tétréfostmine

Références	Système CCM Phase stationnaire (distance)/ Phase mobile/Durée	Impuretés recherchées	Commentaires	Limites
Mangera 2014 (89)	Teal strip biodex® (Whatman 1CHR)(4cm) /acétate d'éthyle /1 min	TcR et TcO ₄ ⁻	Comparaison des méthodes alternatives avec la méthode de référence (t-test apparié).	Les bandes miniaturisées teal strip biodex® (4cm) ne sont pas satisfaisantes car mauvaise migration de l'acétate d'éthyle
	A/Whatman 3MM® (5.5cm)/ NaCl 0.9% /7-9min B/Whatman 3MM® (5.5cm)/acétone :dichloro méthane /7-9min	A/ TcR B/ TcO ₄ ⁻ Les valeurs moyennes de PRC sont comparables mais Whatman® surestime légèrement le TcR dans le NaCl et sous- estime le TcO ₄ ⁻ dans l'acétone/ dichlorométhane	Nombre d'échantillons non détaillé	Pas de témoin TcR
Amin 2011 (90)	ITLC-SA (8.5cm)/ seringue 25G (≈10μL)/ Acétone/ dichlorométhane (65:35) / 3-4min =nouvelle méthode RCP suite à la rupture ITLC-SG	Rf (Tc-tétréfostmine) = 0.3-0.8 Rf(TcO ₄ ⁻) = 0.9-1 Rf(TcR) = 0-0.2	26 échantillons	Pas de témoin TcR
Eggert 2010 (91)	Papier de cellulose prédécoupé (Pall®) (7cm)/ seringue 28.5G (≈10 à 20μL)/tetrahydrofurane/ chloroforme (v:v)	TcO ₄ ⁻ , TcR et impuretés hydrophiles (Rf=0) Tc-tétréfostmine (Rf=1)	17 préparations, 204 échantillons vs méthode RCP (ITLC- SG) dont 4 avec ajout de TcO ₄ ⁻ 24h après.	Pas de témoin TcR Toxicité des solvants, phase mobile à préparer toutes les 2 semaines et conserver au réfrigérateur
Métayé 2001 (92) et Gomez 1999 (93)	ITLC-SG (8cm)/ 3μL/MEK /5min	Rf (Tc-tétréfostmine) = 0.55 Rf(TcO ₄ ⁻) = 1 Rf(TcR) = 0	35 échantillons avec méthode alternative vs méthode RCP (test Wilcoxon)	Influence du volume de dépôt, plus le volume est faible, plus le Rf (Tc- tétréfostmine) diminue
Van Hemert 2001 (94)	ITLC-SG / tétrahydrofurane dans un tampon phosphate	TcO ₄ ⁻ et Tc-tétréfostmine	<1 min	Solvant stable 1an Le volume n'influe pas le résultat

McKay 1997 (95), Zimmer 1998, et Patel 1998 (96)	Whatman 1 (4.5cm)/ Acétate d'éthyle/ pas de séchage Whatman 3MM (6cm)/ 10µL/ Acétate d'éthyle Facile d'utilisation et temps rapide (≈3min)	TcO ₄ ⁻ et TcR (Rf=0) Tc-tétrofosmine (Rf=0.4-0.7)	Testée sur 23 préparations versus méthode RCP TcO ₂ obtenu avec des ions stanneux et pH>5 10 préparations de chaque (comparaison avec méthode RCP (SG))	Pas de témoin TcR
Geyer 1995 (76) et Moati 1997 (97)	ITLC-SG (7.5cm)/5 à 10µL/ dichlorométhane : acétone (65:35) /pas de séchage /≈4min	TcO ₄ ⁻ et TcR	Test sur 112 échantillons Evaluation de l'influence du mélange de solvant et le volume du dépôt.	Solvant toxique. La composition du mélange de solvants et le volume du dépôt influent sur le Rf et l'estimation de la PRC

❖ Limites de la méthode RCP du Stamicis®

La monographie PE du sestamibi mentionne trois impuretés (le TcR, le TcO₄⁻ et le complexe primaire ^{99m}Tc-isonitrile) alors que le RCP du Stamicis® ne s'intéresse qu'au TcO₄⁻ et la méthode ne permet pas de distinguer le complexe ^{99m}Tc-sestamibi du ^{99m}Tc-isonitrile. Deux autres impuretés ^{99m}Tc-cystéine et du ^{99m}Tc-citrate sont envisagées par chélation du TcO₄⁻ avec le chlorhydrate de cystéine et le citrate de sodium présents comme excipient dans la trousse Stamicis®.

La méthode RCP avec les bandelettes Baker-Flex® dans l'éthanol est chronophage. Le mode opératoire nécessite de sécher longuement le dépôt. De plus, elle ne quantifie que le TcO₄⁻ mais nous avons vu précédemment que le radiomarquage de cette trousse peut s'accompagner d'autres impuretés qui pourraient affecter la qualité de l'image.

❖ Méthodes alternatives de PRC (tableau 11)

Tableau 11 : méthodes alternatives proposées dans la littérature pour le sestamibi

Références	Système CCM Phase stationnaire (distance)/ Phase mobile/Durée	Impuretés recherchées	Commentaires	Limites
Faria 2015 (98)	A/ Whatman 3MM (6cm)/1 goutte /alcool: chloroforme(v :v) B/ ITLC-SG (6cm)/1 goutte /alcool: chloroforme(v :v)	A/ TcR et [^{99m} Tc(cystéine) ₂]- et TcO ₄ ⁻ (Rf= 0) Rf (Tc-sestamibi)=0.6-1 B/ TcR et [^{99m} Tc(cystéine) ₂]- (Rf= 0) TcO ₄ ⁻ (Rf=1) Rf (Tc-sestamibi)=0.6-1	TcO ₂ obtenu avec 0,075 mg de SnCl ₂ dans 2 ml de solution aqueuse	Solvant chloroforme toxique Selon l'alcool, tps migration allongé Mélange de solvant non pratique
Luebke 2000 (99) et Zimmer 1991 (100)	Whatman31ET /Acétate d'éthyle	Rf(TcO ₄ ⁻)=0 Rf(TcO ₂)=0 Rf(impuretés polaires) = 0 Rf(MIBI)=0.5-1	Méthode de validation non précisée	Selon Luebke, la méthode alternative est non acceptable car la PRC est surestimée
Patel 1995 (50)	Whatman 3MM (5cm)/ ≈ 10µL/ Acétate d'éthyle /3min	Rf (Tc-sestamibi) = 0.55-0.75 Rf (TcO ₄ ⁻) et Rf(TcR) = 0-0.1	TcR obtenu par réduction de TcO ₄ ⁻ avec ion stanneux et pH>5	Méthode de validation non précisée

Hung 1991 (101)	Whatman 3MM (5cm)/ chloroforme :tétrahydrofurane (v:v) /4 min	Rf (Tc-sestamibi) = 0.9-1 Rf (TcO ₄ ⁻)=Rf(TcR) = 0-0.1	Pour tester les impuretés hydrophiles = colloïde sulfure-Tc Comparaison avec méthodes RCP sur une large gamme	Solvant toxique
Proulx 1989 (102)	A/ITLC-SG (6cm)/Acétone B/ ITLC-SG (6cm)/NaCl0.9%	A/Rf(TcO ₄ ⁻)=0.75-1 Rf(TcO ₂)=0-0.25 Rf(MIBI)=0.5-1 B/ Rf(TcO ₄ ⁻)=0.75-1 Rf(TcO ₂)=0-0.25 Rf(MIBI)=0-0.25	Echantillon reconstitué du kit MIBI sans le ligand d'intérêt isonitrile, Echantillon sans étape de chauffage 15 analyses sur 6 préparations Valeurs comparées à la méthode RCP	Autres impuretés polaires non détectées selon Zimmer (100)

4.5 Traceurs pulmonaires

❖ Limites de la méthode RCP du Pulmocis®

La méthode RCP du Pulmocis® n'est pas une méthode par CCM mais une méthode par filtration membranaire avec mesure d'un ratio d'activité du filtre avant et après rinçage. L'activité restante après rinçage doit être supérieure à 90% de l'activité totale.

❖ Méthodes alternatives de PRC

Nous n'avons pas trouvé de méthodes alternatives dans des articles référencés Pubmed®. En revanche, les guides de référence (tel le dossier du CNHIM) cités précédemment proposent des méthodes alternatives par CCM (ITLC-SG/MEK ou acétone) pour mesurer *a minima* le TcO₄⁻.

4.6 Traceurs cérébraux

❖ Limites de la méthode RCP des trousse à base d'exametazime

La méthode RCP du Ceretec® est système CCM à double système (A/ITLC-SA/MEK et B/ITLC-SA/NaCl à 0.9%) pour mettre en évidence le technétium réduit et hydrolysé et le complexe secondaire hydrophile avec le système A et le pertechnétate libre avec le système B. La pureté radiochimique obtenue doit être supérieure à 80%. La limite de cette méthode est le temps de migration supérieur à 20 minutes (migration sur 14cm) alors même que la préparation doit être utilisée dans les 30min suivant la reconstitution.

❖ Méthodes alternatives pour la PRC des troussees à base d'examétazime (tableau 12)

Tableau 12 : méthodes alternatives proposées dans la littérature pour les troussees à base d'examétazime

Références	Système CCM Phase stationnaire (distance)/ Phase mobile/Durée	Impuretés recherchées	Commentaires	Limites
Fuente 2017 (85)	A/ITLC-SG (7.5cm)/MEK B/ITLC-SG (7.5cm)/NaCl /10min	A/ TcO ₄ ⁻ (Rf=1) B/ TcR (Rf=0) Complexe secondaire (Rf=0)	- Ajout de ^{99m} Tc-albumine nanocolloïdes pour simuler TcR -Micropipette -30 mesures comparées à la méthode RCP -Intégration manuelle des pics (Rs>1.5) -Précision (10 répétitions) -Test bilatéral non paramétrique et test Fisher (p<0.05)	
Hung 1994 (103)	1/Papier de cellulose (tampon de saturation de solvant Gelman®) /éther /2min	Impuretés non précisées	Comparaison de 2méthodes vs la méthode RCP. La méthode 2 est moins fiable sur l'intervalle de PRC comprise entre 75 et 85% (moins bonne résolution donnant 40% de faux non conformes)	
	2/Whatman 17CHR (5cm)/acétate d'éthyle /4min			
Méthode Biodex® 2012 (73)	Whatman 17CHR (5cm)/acétate d'éthyle/sécher le dépôt	TcO ₄ ⁻ et TcR (Rf=0)		

PARTIE 3 : Utilisation en routine de méthodes alternatives

Nous avons pu constater précédemment qu'il existe de nombreuses méthodes alternatives et qu'il est parfois difficile de sélectionner la plus adéquate. Pour répondre à cette problématique nous avons mis au point un score qui permettrait au radiopharmacien de faire son choix de façon plus simple et objective sur les méthodes alternatives de PRC existantes.

Toutefois, pour diverses raisons, le radiopharmacien peut être amené à développer sa propre méthode ou utiliser une méthode alternative existante qu'il devra valider en interne avant son utilisation en routine. La méthodologie permettant de valider une méthode de CCM n'est pas clairement définie par les guides de référence. Dans la partie suivante nous proposerons donc une procédure de validation de méthode alternative par CCM, adaptée aux moyens d'un service de radiopharmacie.

1. Sélection d'une méthode alternative

1.1 Contexte : recherche de critères pertinents

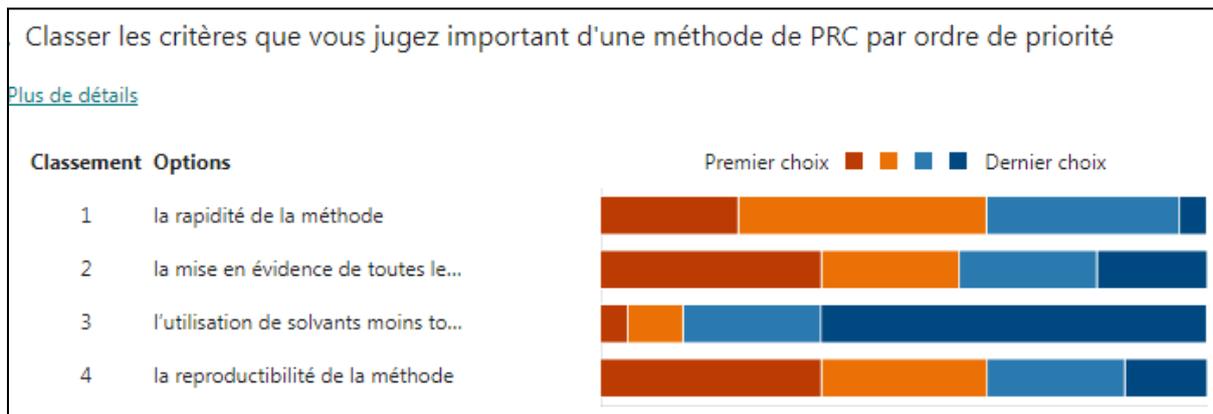
Selon le dossier du CNIHM (2015), une méthode alternative doit répondre aux critères suivants :

- donner des résultats comparables aux résultats des techniques de référence,
- être fiable et reproductible,
- être rapide.

Les autres paramètres importants qui définissent une méthode d'analyse quantitative sont : la résolution, la sensibilité, la linéarité, le temps, la praticabilité et le coût (68). Le guide de l'EANM traitant de la validation de méthode admet que la détermination de la PRC n'est pas vraiment quantitative puisqu'elle est calculée comme le rapport entre la surface du pic du complexe d'intérêt et la surface globale de tous les pics détectés par le radiochromatographe (64). Plus concrètement, selon notre sondage, les qualités premières d'une méthode attendues par les radiopharmaciens sont (tableau 13) sont :

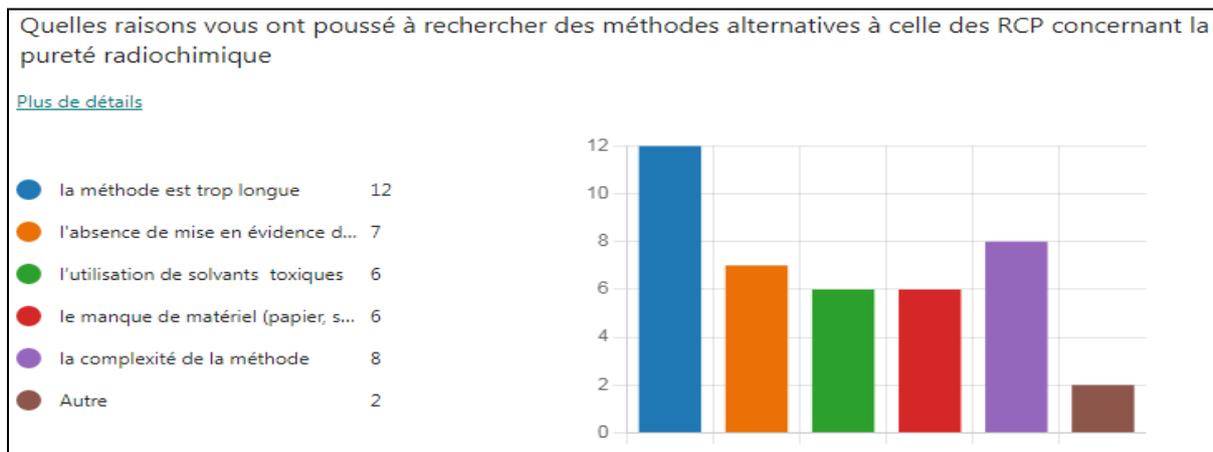
- la mise en évidence de toutes les impuretés,
- la reproductibilité de la méthode,
- la rapidité de la méthode.

Tableau 13 : résultats de notre sondage sur les critères importants d'une méthode de PRC



L'analyse de nos résultats souligne toutefois que le temps et la complexité de la méthode sont les 2 principaux motifs d'insatisfaction de la méthode RCP (tableau 14).

Tableau 14 : résultats de notre sondage sur les causes entraînant le développement d'une méthode alternative



1.2 Matériel et méthode : évaluation des critères pertinents

En vue de la sélection d'une méthode alternative, nous nous sommes inspirés de scores existants dans la littérature en y ajoutant quelques critères jugés pertinents. Nous avons trouvé seulement 2 articles qui traitent de ce sujet. En 1996 une étude s'est intéressée à comparer et scorer divers systèmes de CCM et mettait en évidence le manque d'équivalence. L'évaluation a été menée sur plusieurs solvants et phases stationnaires. Pour chaque système, un dépôt d'un volume de 1 à 5µL de trousse radiomarquée et de TcO_4^- ont été testés au moins trois fois (104). Cette étude a construit un score à partir de différents critères : la facilité de manipulation, l'influence du volume du dépôt selon la phase stationnaire, l'influence du séchage du dépôt, le temps de migration nécessaire et la bonne séparation des pics. Les systèmes utilisant du papier ITLC-SG avec le solvant MEK ou NaCl 20% ont obtenu les meilleurs scores et ressortent comme les plus adaptés en radiopharmacie. La méthodologie de cette étude est simple et ne requière peu d'équipement. En revanche seule l'impureté TcO_4^- est prise en

compte et nous avons vu précédemment que d'autres impuretés peuvent influencer sur la qualité des images. Un autre article s'est intéressé à l'évaluation des méthodes alternatives à la suite des problèmes d'approvisionnement en support ITLC-SG (89). Il a été comparé l'utilisation de supports ITLC-SG (1.5x20cm, migration sur 15cm), Tec-Control™ (0.7x6cm, migration sur 4cm) et papier Whatman 3MM® (1.5x7.5cm, migration sur 5.5cm) par différents opérateurs. Le dépôt a été effectué à l'aide d'une seringue de 28G. Des cuves chromatographiques de taille et forme différentes ont été utilisées ainsi qu'un compteur TLC pour l'analyse. Les temps nécessaires à la migration ont été notés : 10 à 15min pour ITLC-SG, 7 à 9 min pour le papier Whatman® et environ 1 min pour les bandes miniatures Tec-Control™. Notons toutefois que le relevé du temps n'est pas le reflet de la vitesse de migration du solvant sur la phase stationnaire puisque les distances de migration diffèrent selon les supports testés.

1.3 Résultats et discussion : proposition d'un score et outil comparatif

Les 6 critères retenus qui pondèrent le score sont les suivants :

- **la phase stationnaire** : facilité d'utilisation (pré-découpage, épaisseur, comportement dans la cuve) et son coût (prix pondéré au nombre d'utilisations pour les troussees courantes)
- **la phase mobile** : sa toxicité, solvant pur ou en mélange (complexité et facteur influençant)
- **le temps**
- **la variabilité des résultats** (reproductibilité : les facteurs influençant tels que la taille du dépôt, le séchage du dépôt, le temps de migration une fois le front de solvant atteint)
- **la mise en évidence des impuretés** : en priorité TcO_4^- , puis le TcR et autres complexes secondaires (résolution)

Pour chaque critère, le tableau ci-dessous détaille le score (tableau 15). Il s'agit d'un score sur 100 qui tient compte des 4 premiers critères cités ci-dessus (support, solvant, temps et fiabilité des résultats) que l'on pondère en fonction du nombre d'impuretés détectées (coefficient à 0, 0.5 ou 1). Un coefficient pourrait aussi prendre en compte si la méthode a été rigoureusement validée (coefficient 1) ou non (coefficient 0).

Tableau 15 : détails du score proposé

Critères	Type de papier	Pratique	Coût	Score /5
Support CCM	Whatman 3MM	5	5	5
	Whatman 31ET	4	3	3,5
	Whatman 31	4	3	3,5
	Whatman 3	4	5	4,5
	ITLC-SG	5	3	4
	ITLC-SA	4	2	3
	Whatman 1	3	5	4
	Whatman 17CHR	4	1	2,5
	Tampon de saturation de solvant			
	Whatman 1CHR	3	5	4
	Acide silicique fluorescent F254 sur plaque de verre	5	3	4
	Plaque d'oxyde d'aluminium Baker-Flex®	1	5	3
	Solvant	Type solvant	Toxicité	Mélange
Acétone		3		3
Méthyléthylcétone (MEK)		3		3
Acétate d'éthyle		3		3
NaCl 10%		5		5
NaCl 0.9%		5		5
Ethanol		4		4
Mélange acétone/acétate éthyle (1V/1,5V)		3	-0,5	2,5
Eau ppi		5		5
Acétate de sodium 2M		3		3
Mélange acétone/dichlorométhane(65:35)		1	-0,5	0,5
Dichlorométhane		1		1
Citrate de sodium 0,1M		3,5		3,5
Méthanol		0		0
Acétate de sodium 1M		3		3
Mélange MEK/acétone (1,5V/1V)		3	-0,5	2,5
Mélange éthanol/eau ppi (90%/10%)		4	-0,5	3,5
Mélange acétate d'ammonium 10%/méthanol (v/v)		0	-0,5	0
Mélange tétrahydrofurane/chloroforme (v/v)		0	-0,5	0
Mélange MEK/ac. éthyle (1/1,5V)		3	-0,5	2,5
Mélange tétrahydrofurane dans un tampon phosphate		0	-0,5	0

Temps CQ	Temps CCM			Score /5	
	moins de 5min			5	
	entre 5 et 10min			2,5	
	entre 10 et 20 min			1	
	>20min			0	
Facteurs influençant CCM	Facteurs influençant		Pénalité	Score /5	
	résolution (Rf proches, espèce avec vitesse de migration moins rapide que le solvant)		-1	Si 0 facteur 5	
	dépend du volume		-1	Si 1 facteur 4	
	dépend séchage		-1	Si 2 facteurs 3	
	Aucun		0	Si 3 facteurs 2	
Impuretés mises en évidences	Impuretés mises en évidences		Critères/formule		Facteur b (=b1+b2)
	TcO ₄ ⁻ libre (b1)		oui		0,5
			non		0
	Autres impuretés (b2)		= [0.5 x Nb d'impuretés détectées (hors TcO ₄ ⁻)] / [Nb total d'impuretés existantes (hors TcO ₄ ⁻)]		entre 0 et 0,5
Score /100 = [score support + score solvant + score temps + score variabilité] x 5 x facteur b					

En parallèle, nous avons construit un outil à partir d'un tableur Excel qui recenserait les méthodes alternatives validées en interne par les établissements et celles mentionnées dans les RCP par trousse. Le calcul de score a été intégré afin de faciliter le choix de la méthode par le radiopharmacien (figure 48).

Trousse	Source	Nature support CCM	Distance	Solvant	Volume	Séchage dépôt	Impuretés mises en évidence	Nature autres impuretés	Validité	Système	Scores total
MYOVIEW	CH AIX	Whatman 31ET	(vide)	Acétone	1 goutte	non	Uniquement TcR	(vide)	oui	Double	20
	CH AIX	ITLC-SG	?	Acétate d'éthyle	1 goutte	non	TcO ₄ + autres	Glucuronate	oui	Double	60
	CNIHM	ITLC-SA	15	Mélange acétone/dichlorométhane(65:35)	1 goutte	non	toutes les impuretés	impuretés hydrophiles	oui	Simple	32,5
	HIASA	ITLC-SG	15	Mélange acétone/dichlorométhane(65:35)	1 goutte	non	Les 2 principales impuretés	(vide)	oui	Simple	28,125
	RCP	ITLC-SA	15	Mélange acétone/dichlorométhane(65:35)	10µL	non	toutes les impuretés	impuretés hydrophiles	oui	Simple	30

Figure 48 : présentation de l'outil comparatif

A noter qu'il est possible si une seule CCM ne met pas en évidence toutes les impuretés de réaliser des CCM à double système afin d'accroître la sensibilité de la PRC. Dans ces cas-là, il est possible d'additionner le score de chaque système mettant en évidence chacun des impuretés pour obtenir un score total de la méthode. Prenons l'exemple de la méthode pour le Myoview® effectuée au CH d'Aix-

en-provence qui utilise une CCM à double système pour mettre en évidence l'ensemble des impuretés. Le premier système chromatographique (ITLC-SG/Acétate d'éthyle) obtient un score de 60 points avec la détection du TcO_4^- principalement et d'autres impuretés hydrophiles. A ce score on peut ajouter les 20 points alloués au deuxième système chromatographique (Whatman 31ET/Acétone) qui détecte uniquement le Tc réduit. Ce système double obtient donc un score de 80/100, bien supérieur au score de la méthode RCP (30/100) selon le montage de notre score. Cet outil est en cours de validation par le groupe de travail sur la thématique des CQ de la SoFRa, l'objectif étant de le mettre à disposition des adhérents sur le site internet de la SoFRa.

2. Validation de méthodes radioanalytiques

2.1 Contexte

Le sondage a interrogé les radiopharmaciens sur la méthodologie adoptée pour la validation de méthodes alternatives. Tous les radiopharmaciens ne procèdent pas systématiquement à la validation des méthodes développées sur site (n=6/18). Nous avons également constaté que parmi les 13 services qui effectuent une validation, seulement 6 tiennent compte du TcR (figure 49).

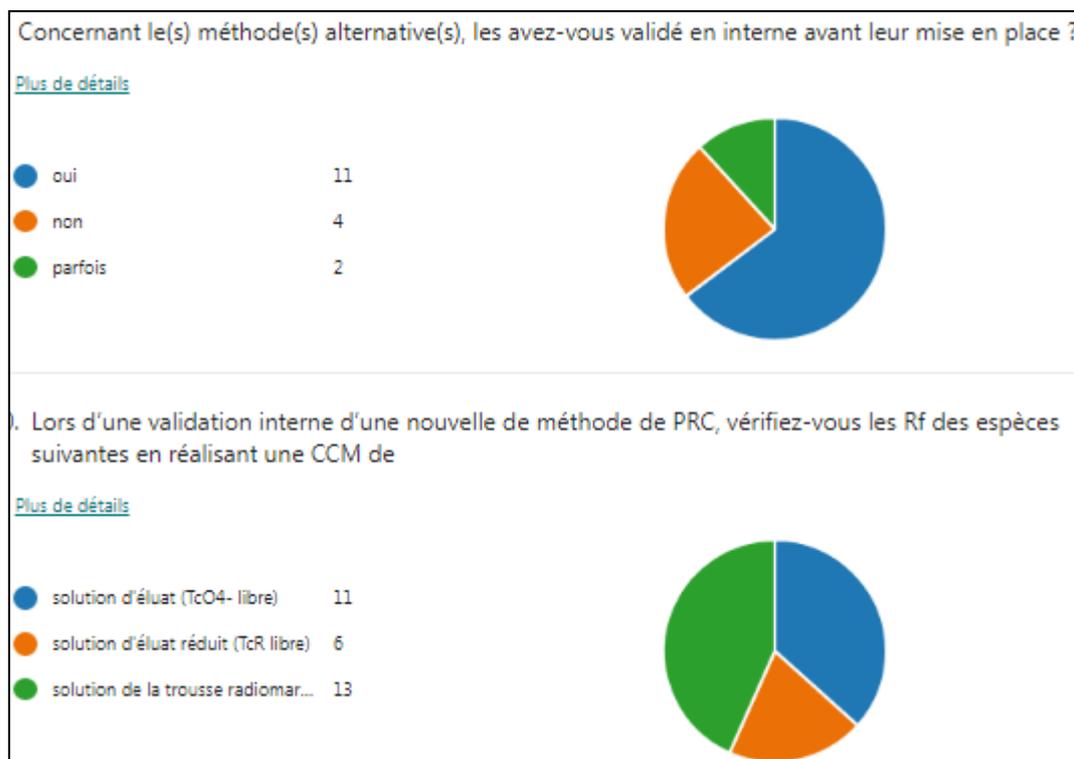


Figure 49 : résultats de notre sondage sur la méthodologie appliquée pour la validation de méthodes alternatives

2.2 Matériel et méthode

Afin de proposer une méthodologie de validation, nous avons consulté les principaux guides concernés. Nous avons fait une distinction des guides relatifs à la préparation de ceux relatifs à la validation de méthodes comme indiqués ci-dessous (figure 50).

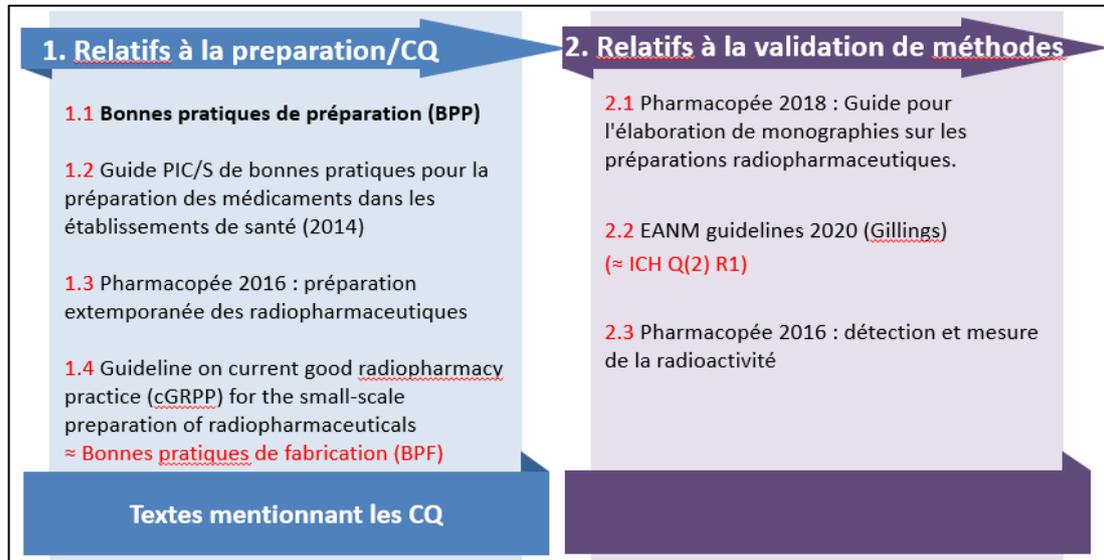


Figure 50 : textes de référence traitant de la préparation et de la validation de méthodes analytiques pour les préparations radiopharmaceutiques

En 2020, l'EANM a publié les lignes directrices sur la validation de méthodes analytiques spécifiques aux radiopharmaceutiques (64). Ce guide est le référentiel pour les fabricants de tout MRP et les services utilisant des médicaments expérimentaux. Il transpose les recommandations du conseil international d'harmonisation (ICH) pour les spécificités que présentent les médicaments radiopharmaceutiques. L'objectif de la validation d'une procédure analytique est de démontrer qu'elle est adaptée à l'usage auquel elle est destinée. Pour la pureté radiochimique par radio-TLC, plusieurs paramètres sont à vérifier (figure 51) : spécificité, linéarité, intervalle, limite de quantification, répétabilité, fidélité intermédiaire, robustesse et justesse (64,105).

Characteristic	Type of analytical procedure						
	Radioisotope identity (approx. T _{1/2})	Radioisotope identity (spectrometry)	Radiochemical identity (LC/TLC/PC)	Radioisotopic purity (limit test)	Radioisotopic purity (spectrometry)	Radiochemical purity* (LC/TLC/PC)	Radioactivity (assay)
Accuracy	-	-	-	-	+	+	+
Precision							
Repeatability	+	-	-	-	(+)	(+)	+
Intermediate Precision	-	-	-	-	(+)	(+)	-
Specificity	+	+	+	+	+	+	+
Detection Limit	-	-	-	+	-	-	-
Quantification Limit	-	-	-	-	+	+	-
Linearity	+	-	-	-	+	+	+
Range	+	-	-	-	+	+	+

* Radioenantiomeric purity measurements should be validated analogously.
 (+): not always possible (e.g. short half-life, see text).
 LC = liquid chromatography; TLC = thin-layer chromatography; PC = paper chromatography

Figure 51 : recommandations ICH adaptées aux MRP (105)

Toutefois, en raison des caractéristiques inhérentes aux détecteurs de radioactivité, la validation de méthode pour la pureté radiochimique peut se limiter à la détermination de la répétabilité, de la linéarité et de la spécificité (106). Nous proposons donc de s'intéresser à ces critères.

2.3 Résultats et discussion : proposition d'une méthodologie

Au préalable d'une validation de méthode, le mode opératoire de la méthode par CCM à valider doit être précisément établi. Il détaille les informations suivantes : la nature du support, ses dimensions, la composition de la phase mobile, le volume de l'échantillon déposé, la nécessité d'un temps de séchage du dépôt avant migration, la distance et le temps de migration. En effet, un mode opératoire détaillé évitera d'introduire des variabilités dans les résultats. Les paragraphes suivants détaillent le principe de chaque critère à valider. Nous nous sommes inspirés du guide de la PE pour l'élaboration d'une monographie ainsi que du guide de l'EANM de 2020 qui s'imposent pour les médicaments expérimentaux et à tout fabricant de MRP. Nous avons apporté quelques ajustements afin que la méthodologie soit applicable en routine et adaptée aux moyens d'un service de radiopharmacie standard.

2.3.1 Spécificité

❖ Principe

Par définition, la spécificité d'une méthode est sa capacité d'évaluer sans équivoque l'analyte en présence de composants dont on peut s'attendre à ce qu'ils soient présents. Lorsqu'on mesure la PRC, il faut avoir connaissance des impuretés potentiellement présentes dans la trousse et identifier les Rf

propres à ces impuretés selon la méthode à valider. Comme évoqué précédemment, les deux principales impuretés sont le TcO_4^- et le TcR. Par conséquent, il est important de pouvoir disposer de ces 2 impuretés afin d'étudier leur comportement et d'observer si elles migrent au même endroit que le complexe technétié d'intérêt. Pour se faire, il faut être en mesure de produire du TcO_4^- et du TcR. Concernant le TcO_4^- , un éluat de générateur nous permet d'étudier son comportement. Concernant le TcR, nous avons pu nous apercevoir que l'utilisation de troussees à base de pyrophosphate stanneux (Technescan PYP®, Angiocis®) pourtant utilisées en clinique pour la réduction du $^{99\text{m}}\text{Tc}$ dans le cadre des marquages des globules rouges n'est pas pertinente pour s'assurer de la spécificité de la méthode. En effet, le $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -pyrophosphate ne se comporte pas toujours de la même façon que le $^{99\text{m}}\text{Tc}$ réduit et hydrolysé par du chlorure d'étain comme illustré par la figure 52 (107). Nous avons utilisé la méthode RCP de l'Osteocis® (Whatman 17CHR et NaCl à 0.9%) pour isoler et quantifier le TcR ($R_f=0$). Nous avons remarqué que le complexe $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -pyrophosphate migre avec le front de solvant ($R_f=1$) alors que la solution de TcR reste au dépôt.

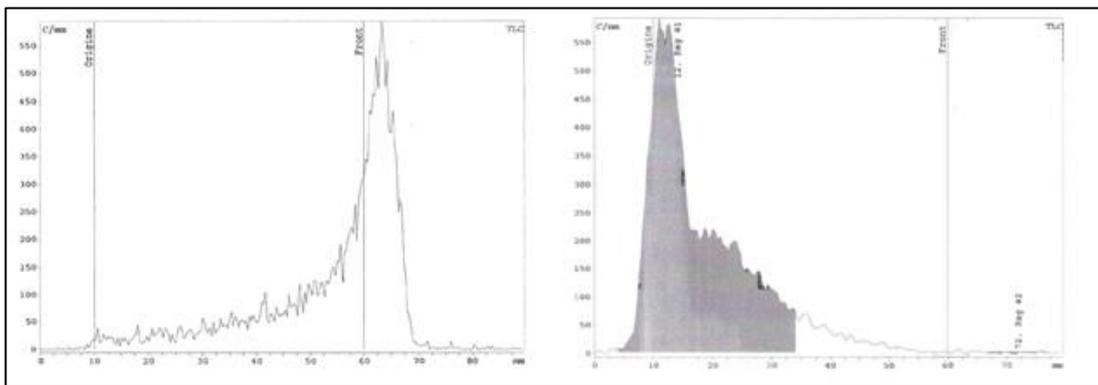


Figure 52 : radiochromatogrammes obtenus avec la méthode par CCM sur papier Whatman 17CHR et NaCl à 0.9% d'une préparation de $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -pyrophosphate (gauche) et d'une préparation d'éluat mise en contact avec du chlorure d'étain (droite)

A ce titre, il existe différentes propositions dans la littérature rapportant la façon d'obtenir une solution de TcR. Certains réduisent une solution d'éluat avec des ions stanneux en s'assurant d'avoir un $\text{pH} \geq 5$ et en l'absence d'agent chélateur ou complexant (96). Pour se faire, il suffit d'ajouter à l'éluat contenu dans un flacon sous atmosphère d'azote du chlorure d'étain dihydraté et de l'acide ascorbique (108). Il existe des préparations plus complexes à partir de chlorure d'étain dihydraté dilué en solution aqueuse, de fluorure de sodium et de polyvinylpyrrolidone (conservateur) (109). Il est aussi possible de mettre en contact du TcO_4^- avec une solution de chlorure stanneux dihydraté, de 5-acide sulfosalicylique dihydraté, de D-gluconate de sodium et de bicarbonate de sodium dans un flacon sous vide (92).

Afin de proposer une préparation simple pour l'obtention de TcR, nous avons opté pour le mode opératoire suivant :

- peser 50mg de poudre de chlorure d'étain (SnCl_2)
- diluer dans du NaCl à 0.9% et récupérer dans une seringue en complétant jusqu'à 10mL
- transférer dans un flacon sous vide (flacon d'éluat) et agiter
- prélever 0.1mL de la solution mère et diluer au 1:100
- vérifier que la solution soit limpide et que le pH de cette solution soit supérieur ou égal à 5 (= solution fille de chlorure d'étain)
- mélanger dans un flacon 1ml de la solution fille de SnCl_2 et 1 ml d'éluat puis agiter
- laisser reposer 5 à 10 minutes
- contrôler la qualité de la réduction par CCM.

Pour certaines trousse il peut exister des impuretés secondaires comme évoqué précédemment (paragraphe 2.2.4 de la partie 1). Pour ces impuretés, il est possible de trouver dans la littérature un mode opératoire pour les préparer. C'est le cas par exemples des complexes suivants : le $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -mannitol (53), le $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -glutamine (61), le $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -tricine (54), $^{99\text{m}}\text{Tc(V)}$ -DMSA (34,35) et le $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -gluconate (46). Par ailleurs, lorsque les impuretés ne sont pas disponibles, la PE propose de soumettre la préparation à des facteurs de stress (chaleur, O_2 , variations de pH) afin de déstabiliser le complexe d'intérêt et entraîner la survenue d'impuretés (105).

❖ Méthode proposée

Afin de s'assurer de la spécificité de la méthode, nous proposons de réaliser une CCM par préparation, de la méthode à valider, dans les mêmes conditions avec les échantillons suivants et relever leur Rf :

- la trousse radiomarquée
- l'éluat TcO_4^-
- une solution de TcR
- l'impureté secondaire lorsque cela est possible.

Si la résolution n'est pas satisfaisante, il est conseillé de réaliser une CCM d'un mélange radiotraceur/impuretés en excès afin de visualiser si les pics sont bien distincts (figures 53 et 54).

❖ Critères de validation

Selon le guide de l'EANM et de la PE, la spécificité est évaluée par la résolution (R_s) entre le pic du complexe d'intérêt et celui des impuretés connues. Idéalement la résolution doit être supérieure à 1.5, soit moins d'1% de chevauchement entre deux pics. Cependant, une résolution inférieure peut être justifiée dans certains cas. La R_s peut être calculée à l'aide du logiciel interfacé avec le radiochromatographe. De plus, la R_s pourrait se calculer avec la formule suivante :

$$R_s = 2 \cdot \frac{(dr_2 - dr_1)}{(\omega_1 + \omega_2)}$$

Avec dr_1 = distance de migration de l'espèce 1 (en mm)

dr_2 = distance de migration de l'espèce 2 (en mm)

ω_1 = largeur du pic de l'espèce 1 (en mm)

ω_2 = largeur du pic de l'espèce 2 (en mm)

❖ Exemples

Pour le Néphromag®, nous avons réalisé des essais d'une méthode alternative par CCM à partir d'un support ITLC-SA et de solvant MEK. Les R_f du complexe, du TcO_4^- et du TcR sont indiqués dans la figure 53.

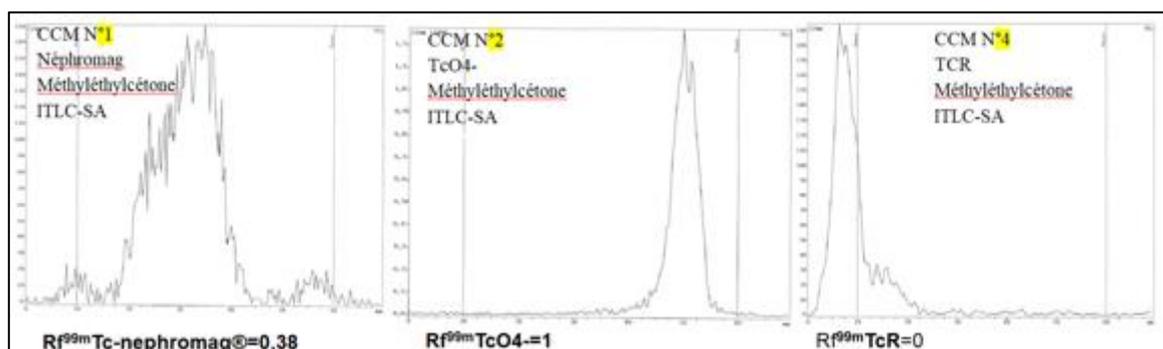


Figure 53 : radiochromatogrammes obtenus à partir des 3 échantillons

Le R_f du complexe et du TcR étant proches, nous avons vérifié que leurs pics étaient bien distincts en cas de mélange (figure 54) avec une R_s à 1,54 ($=2 \times [25-0]/[12,5+20]$).

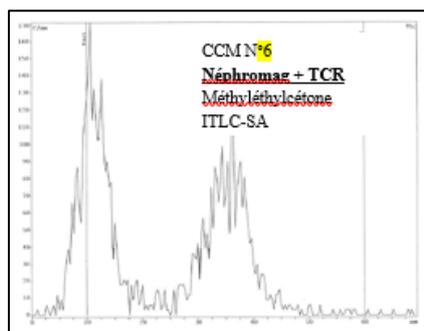


Figure 54 : radiochromatogrammes obtenus à partir d'un mélange du complexe et de TcR

2.3.2 Linéarité, intervalle et limite de quantification (LQ)

❖ Principe

Par définition, la linéarité est la capacité d'une méthode, dans un intervalle donné, à obtenir des résultats qui sont directement proportionnels à la quantité d'analyte dans l'échantillon. Selon les guides PE et EANM, la méthode doit être linéaire selon l'intervalle suivant : de la LQ à la concentration la plus élevée attendue. Pour rappel, la LQ correspond à la quantité la plus faible d'analyte dans un

échantillon qui peut être déterminée quantitativement avec une précision appropriée ; généralement le rapport signal sur bruit de fond est de 10. Il est préconisé de réaliser des dilutions pour effectuer au moins 5 mesures couvrant l'intervalle. Les guides prévoient que s'il est démontré que la procédure d'analyse n'a pas d'incidence sur les résultats de mesure de la radioactivité, seule la démonstration de la linéarité du détecteur peut être considérée comme suffisante (105). La quantité calculée de radioactivité est tracée par rapport aux quantités mesurées et l'ajustement linéaire doit être conforme avec un coefficient de corrélation $R \geq 0,99$.

❖ Méthode proposée

L'évaluation de la linéarité pour les valeurs de PRC nécessite de connaître la proportion exacte d'activité due à l'impureté comparativement à l'activité totale, ce qui nous semble difficilement réalisable en pratique avec des PRP technétées. D'une part, sans équipement spécifique type détecteur UV couplé à la colonne de CLHP, cela ne permet pas la quantification du vecteur non radioactif. D'autre part, l'ajout de TcO_4^- dans une préparation contenant le complexe d'intérêt va se complexer au moins en partie au ligand en excès dans la trousse. Il sera donc impossible de connaître la quantité exacte de TcO_4^- libre dans l'échantillon analysé. C'est pour cette raison que nous ne proposons pas ce test dans la procédure de validation d'une méthode par CCM. En revanche, un test de linéarité peut être réalisé sur le radiochromatographe, notamment sur la plage de linéarité du principal composé radioactif.

2.3.3 Répétabilité

❖ Principe

Par définition, la répétabilité d'une méthode analytique exprime la précision de cette dernière dans les mêmes conditions de fonctionnement sur un court intervalle de temps. Selon les guides de l'EANM et la PE, la répétabilité se détermine à partir de 6 mesures d'une même préparation dopées d'impuretés. La demi-vie du radionucléide doit être prise en compte pour déterminer le nombre de répétitions à effectuer (64).

❖ Méthode proposée

Nous estimons également qu'au minimum 6 mesures d'une même préparation doivent être réalisées par un même opérateur. A partir des valeurs de PRC obtenus, il faut calculer le coefficient de variation (CV) ou l'écart type relatif (RSD) comme étant le rapport entre l'écart-type et la moyenne.

❖ Critères de validation

Le CV des valeurs de PRC doit être inférieur ou égal à 5% afin de conclure sur la répétabilité de la méthode. Les Rf doivent être comparables (± 0.1 en valeur absolue). Le dépôt de l'échantillon et la migration peuvent subir des variations et les exigences de répétabilité doivent donc en tenir compte.

2.3.4 Fidélité intermédiaire

❖ Principe

Selon le guide de l'EANM et la PE, la fidélité intermédiaire s'évalue sur différents jours, par différents analystes, voire des équipements différents.

❖ Méthode proposée

Il nous semble convenable de vérifier la fidélité intermédiaire sur au moins 3 contrôles différents, idéalement sur différents jours, chacun étant réalisé par des opérateurs distincts. Par ailleurs, il est important d'harmoniser les pratiques des analystes concernant l'intégration des pics notamment en définissant des zones de début et de fin de pic ainsi que la zone du bruit de fond.

❖ Critères de validation

Le CV des écarts de valeurs de PRC entre les opérateurs doit être inférieur ou égal à 5%.

Les Rf doivent être comparables (± 0.1 en valeur absolue) pour tous les essais entre les 2 analystes indépendamment du jour.

2.3.5 Robustesse

❖ Principe

Par définition, une méthode est robuste si des changements mineurs dans la procédure n'ont pas d'influence sur les résultats d'une mesure. Il s'agit d'un paramètre important à prendre en compte pour la radio-TLC.

❖ Méthode proposée

La mise au point d'une méthode alternative fixe un ensemble de paramètres tels que la nature de la phase stationnaire, la distance de migration et la composition de la phase mobile. Il nous semble convenable d'évaluer la robustesse de la méthode. Ce critère se vérifie en faisant varier : le volume d'échantillon déposé, le séchage du dépôt et le temps de migration. Il est vérifié si ces derniers exercent une influence sur les Rf et les valeurs de PRC. Pour tester les variations liées au volume, nous préconisons l'utilisation d'une micropipette avec des volumes de 2 μL et de 20 μL . A la seringue, il est possible de faire varier la taille de la goutte mais le volume reste imprécis. Idem pour le temps de séchage, il est intéressant de comparer des valeurs de PRC entre une bande de CCM placée

immédiatement après l'application du dépôt et après 1 minute de séchage à l'air libre. Concernant le temps de migration, il suffit de comparer les valeurs entre une bande dont le solvant est arrivé au front de solvant et une bande qu'on laisse une dizaine de minutes après avoir atteint le front de solvant. Si des variations existent encore à ce stade de développement car aucune alternative présente de meilleurs résultats, il est important de préciser ces facteurs influençants dans le mode opératoire afin de standardiser les pratiques et s'affranchir de ces variations.

2.3.6 Justesse

❖ Principe

Par définition, la justesse d'une méthode exprime l'étroitesse de l'accord entre la valeur qui est acceptée soit comme valeur vraie conventionnelle, soit comme valeur de référence acceptée et la valeur trouvée. Le guide de l'EANM propose de réaliser 3 préparations dopées avec 5% d'impureté connue et de réaliser 2 CCM par préparation. Les 2 valeurs de PRC obtenues sont moyennées. La valeur moyenne mesurée est rapportée à la valeur calculée, on obtient un pourcentage de récupération. Le guide définit une valeur seuil pour le pourcentage de récupération comprise entre 90 et 110%. Quant au guide de la PE, la justesse doit être évaluée à l'aide d'un minimum de 9 déterminations sur un minimum de 3 niveaux de concentration couvrant la plage spécifiée (par exemple, 3 concentrations avec 3 répétitions chacune). Comme évoqué précédemment il est souvent compliqué de maîtriser le taux d'impuretés d'une préparation notamment celle du TcO_4^- .

Selon nous, les valeurs de PRC obtenues doivent être comparées aux valeurs de la méthode de référence. Deux cas de figure se présentent :

- si la méthode alternative prend en compte les mêmes impuretés que la méthode de référence, les valeurs de PRC doivent être comparables (cas 1).

- si la méthode alternative permet d'identifier et isoler d'autres impuretés, la valeur de la PRC sera plus faible ou égale à la valeur obtenue avec la méthode de référence (cas 2).

❖ Méthode proposée

Il nous semble important de s'assurer que les valeurs de PRC obtenus avec la méthode à valider soit comparables à la méthode de référence (cas 1). Nous proposons donc de réaliser à partir une même préparation, 6 contrôles de CCM avec les 2 méthodes : l'une selon la méthode de référence et la seconde selon la méthode à valider. Les mesures ayant servi pour évaluer la répétabilité de la méthode à tester peuvent être utilisées. Les CCM comparatives doivent être réalisées en même temps et dans les mêmes conditions, en particulier pour les préparations à demi-vie courte. Les valeurs de PRC obtenues avec chacune des méthodes sont comparées.

❖ Critères de validation

Dans le cas n°1, nous proposons de comparer les moyennes des valeurs de PRC obtenues avec la méthode à valider et la méthode de référence à l'aide d'un test de Student.

Il faut calculer la différence des deux moyennes et l'écart-type groupé $\sqrt{(s_p^2)}$ des 2 séries de mesures selon la formule : $s_p^2 = \frac{((n_1-1)s_1^2) + ((n_2-1)s_2^2)}{n_1+n_2-2}$ ou selon $s_p^2 = \frac{(s_1^2+s_2^2)}{2}$ si les 2 séries sont de même taille (notre cas).

Puis, nous calculons notre statistique de test de la manière suivante $= \frac{\text{différence des moyennes}}{\sqrt{s_p^2} \times \sqrt{(\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2})}}$.

Enfin, calculer les degrés de liberté $df = n_1 + n_2 - 2$ et se rapporter à la table de Student pour connaître la valeur t avec $\alpha=0.05$. Si notre valeur est inférieure à la valeur t, nous ne rejetons pas l'hypothèse nulle et nous considérons que les moyennes ne sont significativement pas différentes avec $\alpha=0.05$.

Dans le cas n°2, nous vérifions que la valeur de PRC de la méthode à valider reste inférieure ou égale à la méthode de référence.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Les contrôles de qualité des PRP demeurent dans le domaine de compétences du radiopharmacien et sont obligatoires en vue de la libération des lots préparés. Il existe plusieurs techniques analytiques pour évaluer la PRC mais la CCM couplée à un radiodétecteur est la méthode la plus utilisée par les services de radiopharmacie. Nous avons montré qu'il existe plusieurs facteurs qui peuvent influencer les résultats. Les radiopharmaciens peuvent s'appuyer sur des méthodes dites de référence émanant des RCP ou de la PE. En revanche, nous avons souligné que pour certaines trousse, les méthodes ne semblent pas adaptées ou ne détectent pas toutes les impuretés qui peuvent avoir un impact sur les images. Ce constat a amené certains services à développer des méthodes alternatives qui ont également pu faire l'objet de publications dans la littérature. Nous nous sommes interrogés sur la façon de classer ces méthodes alternatives et avons abouti à l'élaboration d'un score. Par ailleurs, nous nous sommes également intéressés à la méthodologie permettant de valider une méthode lorsque celle-ci a été développée en interne. Nous avons identifié quelques guides évoquant les critères de validation à obtenir pour qu'une méthode soit scientifiquement fondée. Nous avons souhaité adapter cette méthodologie afin d'harmoniser les pratiques. Les résultats de notre sondage rappellent que 77% des services interrogés utilisent des méthodes alternatives mais que 33% d'entre eux ne valident pas systématiquement les méthodes alternatives utilisées.

Dans le cadre de ce travail nous avons constitué un groupe de travail à la SoFRa afin d'étudier les problématiques rencontrés lors des contrôles de qualité. L'objectif principal étant de rédiger un guide de bonnes pratiques sur le sujet. Le sondage a montré que 100% des radiopharmaciens interrogés souhaiteraient la rédaction d'un tel guide. De plus, l'outil Excel colligeant les différentes méthodes alternatives scorées sera mis à disposition des radiopharmaciens sur le site de la SoFRa. Ce guide et cet outil concourront à tendre vers une harmonisation des pratiques en radiopharmacie dans le domaine fondamental des contrôles de qualité.

BIBLIOGRAPHIE

1. Arrêté du 1er décembre 2003 relatif aux qualifications et à la formation des pharmaciens utilisant des médicaments radiopharmaceutiques dans les établissements de santé et les syndicats interhospitaliers - Légifrance [Internet]. [cité 10 nov 2021]. Disponible sur: <https://www.legifrance.gouv.fr/loda/id/LEGITEXT000021234391/>
2. Article R4351-2-4 - Code de la santé publique - Légifrance [Internet]. [cité 10 nov 2021]. Disponible sur: https://www.legifrance.gouv.fr/codes/article_lc/LEGIARTI000038598413/
3. Decristoforo C, Penuelas I, Patt M, Todde S. European regulations for the introduction of novel radiopharmaceuticals in the clinical setting. *Q J Nucl Med Mol Imaging*. 1 juin 2017;61(2):135-44.
4. EANM. Guidelines on current good radiopharmacy practice (cGRPP) in the preparation of radiopharmaceuticals. 2007;19.
5. Westera G, Gadze A, Horst W. A convenient method for the preparation of $^{99m}\text{Tc}(\text{V})$ dimercaptosuccinic acid ($^{99m}\text{Tc}(\text{V})$ -DMSA). *Int J Appl Radiat Isot*. 1 avr 1985;36(4):311-2.
6. Hasan S, Prelas MA. Molybdenum-99 production pathways and the sorbents for $^{99}\text{Mo}/^{99m}\text{Tc}$ generator systems using (n, γ) ^{99}Mo : a review. *SN Appl Sci*. 7 oct 2020;2(11):1782.
7. Shearer DR, Pezzullo JC, Moore MM, Coleman P, Frater SI. Radiation dose from radiopharmaceuticals contaminated with molybdenum-99. *J Nucl Med Off Publ Soc Nucl Med*. mai 1988;29(5):695-700.
8. Zolle I. Performance and Quality Control of the $^{99}\text{Mo}/^{99m}\text{Tc}$ Generator. In: Zolle I, éditeur. *Technetium-99m Pharmaceuticals* [Internet]. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2007 [cité 26 sept 2022]. p. 77-93. Disponible sur: http://link.springer.com/10.1007/978-3-540-33990-8_5
9. Technetium Radiopharmaceutical Chemistry [Internet]. [cité 21 avr 2022]. Disponible sur: https://pharmacyce.unm.edu/nuclear_program/freelessonfiles/vol12lesson3.pdf
10. Hammermaier A, Reich E, Bögl W. Chemical, radiochemical, and radionuclide purity of eluates from different commercial fission $^{99}\text{Mo}/^{99m}\text{Tc}$ generators. *Eur J Nucl Med*. 1986;12(1):41-6.
11. Barbier Y. Les radiopharmaceutiques. EDP Sciences. 2009.
12. Waight LA, Cunnane CM, O'Brien LM, Millar AM. Effect of ^{99}Tc on the radiochemical purity of ^{99m}Tc radiopharmaceuticals. *Nucl Med Commun*. août 2011;32(8):752-6.
13. Cloutier L. Radiopharmacologie pour technologues en médecine nucléaire [Internet]. Centre collégial de développement de matériel didactique; 2008 [cité 26 sept 2022]. 84 p. Disponible sur: <https://eduq.info/xmlui/handle/11515/32487>
14. Ringler. Wet column radiolysis. https://inis.iaea.org/collection/NCLCollectionStore/_Public/18/013/18013788.pdf.
15. Shukla SK, Manni GB, Cipriani C. Effect of aluminium impurities in the generator-produced pertechnetate- ^{99m}Tc ion on thyroid scintigrams. *Eur J Nucl Med*. 1 sept 1977;2(3):137-41.

16. L'éluat du générateur $^{99}\text{Mo}/^{99\text{m}}\text{Tc}$. In: Les médicaments radiopharmaceutiques. 2013. (Dossier du CNHIM).
17. Technetium-99m radiopharmaceuticals: manufacture of kits. Vienna: International Atomic Energy Agency; 2008. 189 p. (Technical reports series / International Atomic Energy Agency).
18. Peyronnet D. Sécurisation du circuit du médicament radiopharmaceutique : application au CHU de Caen. 2008;108.
19. Pasquallini R. Générateurs isotopiques et trousse. 1996; INSTN.
20. Jean ABP. Radiomarquage, caractérisation et biodistribution de la complexation du $^{99\text{m}}\text{Tc}$ par deux chélates déjà synthétisés comme sidérophores: O-trenox tris (8-hydroxy-quinoléine) et O-trensox tris (8-hydroxy-5-sulfonate-quinoléine). 2020;77.
21. Moreau M. Marquage de molécules biologiques par des complexes de radiométaux à base de polyamines macrocycliques. :199.
22. Ponto JA. Preparation and Dispensing Problems Associated with Technetium Tc-99m Radiopharmaceuticals. :80.
23. Cusnir R, Leresche M, Pilloud C, Straub M. An investigation of aspects of radiochemical purity of $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -labelled human serum albumin nanocolloid. EJMNM Radiopharm Chem. 11 oct 2021;6(1):35.
24. Noll B, Johannsen B, Spies H. Sources of radiochemical impurities in the $^{99\text{m}}\text{Tc}/\text{S}$ -unprotected MAG3 system. Nucl Med Biol. 1 nov 1995;22(8):1057-62.
25. Waight CC, Beattie LA, O'Brien LM, Millar AM. Preparation of $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -MAG3: radiochemical purity is affected by the residence time of sodium chloride injection in a three-part syringe. Nucl Med Commun. févr 2006;27(2):197-200.
26. Craig F, Beattie LA, O'Brien LM, Millar AM. Preparation of $^{99\text{m}}\text{Tc}$ radiopharmaceuticals: the effect on radiochemical purity of using sodium chloride injection from plastic ampoules that have been exposed to light. Nucl Med Commun. nov 2009;30(11):868-71.
27. Beattie LA, O'Brien LM, Waight CC, Homer NZ, Andrew R, Millar AM. Preparation of $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -MAG3: the effect on radiochemical purity of using sodium chloride injection from plastic ampoules that have been exposed to light. Nucl Med Commun. juill 2008;29(7):649-53.
28. Vallabhajosula S, Killeen RP, Osborne JR. Altered biodistribution of radiopharmaceuticals: role of radiochemical/pharmaceutical purity, physiological, and pharmacologic factors. Semin Nucl Med. juill 2010;40(4):220-41.
29. Petropoulou A. Tc-99m radiopharmaceuticals and in-house chromatographic methods. Eur Pharm Rev. oct 2019;24(5):63-6.
30. Cours UE 3.9 PRODUITS RADIOPHARMACEUTIQUES [Internet]. [cité 26 févr 2022]. Disponible sur: http://www.lyc-monnet-franconville.ac-versailles.fr/IMG/pdf/9_cqvd.pdf
31. Castro ALS, Trindade BM, Campos TPR. Internal dosimetry based on reduced hydrolyzed $^{99\text{m}}\text{Tc}$ and $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -pertechnetate biokinetics in rat model. In Brazil; 2013.

32. Hellin. Absorption extrapulmonaire dans la rate pendant la perfusion pulmonaire avec Tc-99m MAA - PubMed [Internet]. [cité 20 avr 2022]. Disponible sur: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1424383/>
33. Hiltz A, Iles S. Abnormal Tc-99m MAA accumulation. *Clin Nucl Med.* oct 1988;13(10):727-9.
34. Kobayashi H, Horiuchi Suzuki K, Sakahara H, Yao ZS, Yokoyama A, Konishi J. Oxygen bubbling can improve the labelling of pentavalent technetium-99m dimercaptosuccinic acid. *Eur J Nucl Med.* 1 juin 1995;22(6):559-62.
35. Washburn LC, Biniakiewicz DS, Maxon HR. Reliable preparation of 99mTc (V) DMSA by a simple modified method using a commercial kit for 99mTc (III) DMSA. *Nucl Med Biol.* juill 1995;22(5):689-91.
36. Biersack HJ, Freeman LM. *Clinical Nuclear Medicine.* Springer Science & Business Media; 2008. 573 p.
37. Straub M, Leresche M, Pilloud C, Devynck F, Stritt N, Hesselmann R. A new two-strip TLC method for the quality control of technetium-99m mercaptoacetyl-triglycine (99mTc-MAG3). *EJNMMI Radiopharm Chem.* 14 mars 2018;3(1):5.
38. Chen F, Decristoforo C, Rohrbacher B, Riccabona G. A simple two-strip method to determine the radiochemical purity of technetium-99m mercaptoacetyltriglycine. *Eur J Nucl Med.* 1 avr 1993;20(4):334-8.
39. Nosco DL, Wolfangel RG, Bushman MJ, Grummon GD, Marmion ME, Pipes DW. Technetium-99m MAG3: Labeling Conditions and Quality Control. *J Nucl Med Technol.* 1 juin 1993;21(2):69-74.
40. van Hemert FJ, van Lenthe H, Schimmel KJM, van Eck-Smit BLF. Preparation, radiochemical purity control and stability of 99mTc-mertiatide (Mag-3). *Ann Nucl Med.* juin 2005;19(4):345-9.
41. Technétium (99mTc) (mertiatide... - European Pharmacopoeia 10.7 [Internet]. [cité 10 nov 2021]. Disponible sur: <https://pheur.edqm.eu/app/10-7/content/10-7/1372F.htm?highlight=on&terms=techn%C3%A9tium%20%2899mtc%29%20%28mertiatide&terms=99mtc&terms=mertiatide&terms=techn%C3%A9tium&terms=injection&terms=mertiatide%20%5B99mtc%5Dtechn%C3%A9tium&terms=99mtc%5Dtechn%C3%A9tium>
42. International Atomic Energy Agency. International conference on quality assurance and new techniques in radiation medicine Book of extended synopses. International Atomic Energy Agency (IAEA); 2006 p. 584.
43. Shattuck LA, Eshima D, Taylor AT, Anderson TL, Graham DL, Latino FA, et al. Evaluation of the hepatobiliary excretion of technetium-99m-MAG3 and reconstitution factors affecting radiochemical purity. *J Nucl Med Off Publ Soc Nucl Med.* févr 1994;35(2):349-55.
44. Piera C, Martínez A, Ramírez I. Radiochemical purity of technetium-99m-HMPAO depends on specific activity. *J Nucl Med Off Publ Soc Nucl Med.* avr 1995;36(4):706.
45. Vanderghinste D, Van Eeckhoudt M, Terwinghe C, Mortelmans L, Bormans GM, Verbruggen AM, et al. An efficient HPLC method for the analysis of isomeric purity of technetium-99m-exametazime and identity confirmation using LC-MS. *J Pharm Biomed Anal.* 8 août 2003;32(4):679-85.

46. Valk PE, Dilts CA, McRae J. A Possible Artifact in Gel Chromatography of Some ^{99m}Tc-Chelates. *J Nucl Med.* 1 avr 1973;14(4):235-7.
47. Sampson A. « Quality control of radiopharmaceuticals », *Textbook of Radiopharmacy: Theory and Practice*, [Internet]. 2nd éd. Amsterdam: SAMPSON, C.B., Ed.; 1999 [cité 18 avr 2022]. Disponible sur: https://books.google.com/books/about/Textbk_Radiopharmacy.html?hl=fr&id=465IHcd3eCoC
48. Métayé T, Rosenberg T, Guilhot J, Bouin-Pineau MH, Perdrisot R. The presence of sodium nitrate in generator eluate decreases the radiochemical purity of ^{99m}Tc-sestamibi. *J Nucl Med Technol.* sept 2012;40(3):187-93.
49. Hung JC, Herold TJ, Wilson ME, Gibbons RJ. Generator eluate effects on the labeling efficiency of ^{99m}Tc-sestamibi. *Nucl Med Biol.* 1 oct 1995;22(7):949-51.
50. Patel M, Sadek S, Jahan S, Owunwanne A. A miniaturized rapid paper chromatographic procedure for quality control of technetium-99m sestamibi. *Eur J Nucl Med.* déc 1995;22(12):1416-9.
51. Varelis P, Parkes SL, Poot MT. The influence of generator eluate on the radiochemical purity of ^{99m}Tc-sestamibi prepared using fractionated Cardiolite kits. *Nucl Med Commun.* juill 1998;19(7):615-23.
52. Moubarik C. Contrôle qualité du sestamibi-Tc^{99m} : on ne voit bien qu'avec le coeur, l'essentiel est invisible pour les yeux [Internet]. 2017 [cité 24 oct 2022]. Disponible sur: <https://www.snphpu.org/poster.php?HiNum=9793>
53. Babich JW, Fischman AJ. Effect of "co-ligand" on the biodistribution of ^{99m}Tc-labeled hydrazino nicotinic acid derivatized chemotactic peptides. *Nucl Med Biol.* 1 janv 1995;22(1):25-30.
54. Larsen SK, Solomon HF, Caldwell G, Abrams MJ. [^{99m}Tc]Tricine: a Useful Precursor Complex for the Radiolabeling of Hydrazinonicotinate Protein Conjugates. *Bioconjug Chem.* 1 sept 1995;6(5):635-8.
55. Arnold RW, Subramanian G, McAfee JG, Blair RJ, Thomas FD. Comparison of ^{99m}Tc complexes for renal imaging. *J Nucl Med Off Publ Soc Nucl Med.* mai 1975;16(5):357-67.
56. Melero. Radiolabeling quality control and radiochemical purity assessment of sup(^{99m}) Tc HYNIC TOC [Internet]. [cité 10 oct 2022]. Disponible sur: <http://repositorio.ipen.br/handle/123456789/16528>
57. von Guggenberg E, Penz B, Kemmler G, Virgolini I, Decristoforo C. Comparison of different methods for radiochemical purity testing of [^{99m}Tc-EDDA-HYNIC-D-Phe1,Tyr3]-Octreotide. *Appl Radiat Isot.* 1 févr 2006;64(2):194-200.
58. Tasdelen B. The effect of selected preparation variables on the radiochemical purity of ^{99m}Tc-EDDA-HYNIC-TOC. *J Radioanal Nucl Chem.* 1 févr 2011;287.
59. Dapueto R, Aguiar RB, Moreno M, Machado CML, Marques FLN, Gambini JP, et al. Technetium glucose complexes as potential cancer imaging agents. *Bioorg Med Chem Lett.* 1 oct 2015;25(19):4254-9.

60. Rosenthal L, Kaye M. Technetium-99m-Pyrophosphate Kinetics and Imaging in Metabolic Bone Disease. *J Nucl Med.* 1 janv 1975;16(1):33-9.
61. Ahmed S. Labeling of Acid (L-Glutamine) with Technetium99m and Biological Evaluation. Disponible sur: https://inis.iaea.org/collection/NCLCollectionStore/_Public/44/066/44066210.pdf?r=1
62. de Blois E, de Zanger RMS, Chan HS, Konijnenberg M, Breeman WAP. Radiochemical and analytical aspects of inter-institutional quality control measurements on radiopharmaceuticals. *EJNMMI Radiopharm Chem.* 28 janv 2019;4(1):3.
63. Vinberg N. 99Tcm-MAG3: Problems with radiochemical purity testing. *Nucl Med Commun.* sept 2000;21(9):869-70.
64. Gillings N, Todde S, Behe M, Decristoforo C, Elsinga P, Ferrari V, et al. EANM guideline on the validation of analytical methods for radiopharmaceuticals. *EJNMMI Radiopharm Chem.* 12 févr 2020;5(1):7.
65. Wunderlich G, Herrling P, Zürn A, Anders P, Kotzerke J. [Chromatographic determination of radiochemical purity - replacement of ITLC SG]. *Nucl Nucl Med.* 2010;49(2):73-7.
66. Abe E, Delyle SG, Alvarez JC. Extraction liquide-liquide : théorie, applications, difficultés. *Ann Toxicol Anal.* 2010;22(2):51-9.
67. Anima-Science. Fichier: procédure optimisation éluant CCM [Internet]. 2012 [cité 17 oct 2022]. Disponible sur: <https://wiki.scienceamusante.net/index.php?title=Fichier:Procedure-optimisation-eluant-CCM.gif#filehistory>
68. Decristoforo C, Zolle I, Rakiás F, Imre J, Jánoki Gy, Hesslewood SR. Quality Control Methods of 99mTc Pharmaceuticals. In: Zolle I, éditeur. *Technetium-99m Pharmaceuticals : Preparation and Quality Control in Nuclear Medicine* [Internet]. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2007 [cité 26 janv 2022]. p. 123-50. Disponible sur: http://link.springer.com/10.1007/978-3-540-33990-8_9
69. Fernandes C. Analytical control and purification of radiopharmaceuticals [Internet]. 2018. Disponible sur: https://indico.cern.ch/event/722135/contributions/2971719/attachments/1672593/2683732/CeliaFernandes_summer_school-2018_1.pdf
70. Maioli C, Bestetti A, Milani F, Cornalba GP, Tagliabue L, Di Benedetto D, et al. Evaluation of different counting methods for use in radiochemical purity testing procedures for 99mTc-labelled radiopharmaceuticals. *Appl Radiat Isot Data Instrum Methods Use Agric Ind Med.* avr 2008;66(4):556-9.
71. Zimmer AM, Pavel DG. Rapid Miniaturized Chromatographic Quality "Control Procedures for Tc-99m Radiopharmaceuticals". 1977;18(12):4.
72. Zimmer A. Miniaturized Chromatographic Quality-Control Procedures for Tc-99m Radiopharmaceuticals. In 1998. Disponible sur: https://pharmacyce.unm.edu/nuclear_program/neolibrary/libraryfiles/miniaturized_chromatography.pdf

73. Biodex Nuclear Medicine : supplies and accessories [Internet]. [cité 18 avr 2022]. Disponible sur: http://www.orion-france.com/en/pdf/orion_biodex.pdf
74. Carpenter. Radioanalytical techniques: ITLC TLC, Minicolumns and Electrophoresis. In: Analytical and Chromatographic Techniques in Radiopharmaceutical Chemistry. Wieland. 1986. p. 39.
75. Mangner TJ. Potential Artifacts in the Chromatography of Radiopharmaceuticals. In: Wieland DM, Tobes MC, Manger TJ, éditeurs. Analytical and Chromatographic Techniques in Radiopharmaceutical Chemistry [Internet]. New York, NY: Springer; 1986 [cité 23 avr 2022]. p. 261-78. Disponible sur: https://doi.org/10.1007/978-1-4612-4854-5_13
76. Zimmer AM, Spies WG, Spies SM, Hendel RC, Geyer M. Rapid Quality Control of Technetium-99m-Tetrofosmin: Comparison of Miniaturized and Standard Chromatography Systems. *J Nucl Med Technol.* 1 sept 1995;23(3):186-9.
77. Mallo J. Analytical artifacts in quality control of 99mTc radiopharmaceuticals. *Int J Rad Appl Instrum B.* 1 janv 1990;17(6):609-11.
78. Rhodes BA. Quality Assurance of Radiopharmaceuticals—A Guide to Hospital Practice. (A special issue of Nuclear Medicine Communications): M. Frier, S. R. Hesslewood, Eds. London, Chapman and Hall (in association with the British Nuclear Medicine Society), 1980, 57 pp. *J Nucl Med.* 1 sept 1981;22(9):838-9.
79. Graham D, Millar AM. Artefacts in the thin-layer chromatographic analysis of 99Tcm-tetrofosmin injections. *Nucl Med Commun.* mai 1999;20(5):439-44.
80. Tessaire T, De Neef L, Cailly T, Peyronnet D, Vigne J. Transferability of a two-strip method for the quality control of technetium-99m mercaptoacetyltriglycine ([99mTc]Tc-MAG3). *Eur J Hosp Pharm Sci Pract.* 20 juill 2021;ejhpharm-2021-002804.
81. Garnuszek P, Pawlak D, Maurin M, Jankovic D, Karczmarczyk U, Mikołajczak R. Comparison of chromatographic methods for quality control of DMSA complexes with 99mTc and 188Re at (III) and (V) oxidation states. *Nucl Med Rev Cent East Eur.* 30 août 2012;15(2):95-100.
82. Moubarik C, Fafi F, Guillet B, Tessonier L. Interaction médicamenteuse et scintigraphie rénale au DMSA : un traceur peut en cacher un autre... - EM consulte [Internet]. 2012 [cité 3 nov 2022]. Disponible sur: <https://www.em-consulte.com/article/704405/interaction-medicamenteuse-et-scintigraphie-renale>
83. Loberg MD, Cooper M, Harvey E, Callery P, Faith W. Development of new radiopharmaceuticals based on N-substitution of iminodiacetic acid. *J Nucl Med Off Publ Soc Nucl Med.* juill 1976;17(7):633-8.
84. Jovanović V, Konstantinovska D, Memedović T. Determination of radiochemical purity and stability of 99mTc-diethyl HIDA. *Eur J Nucl Med.* 1981;6(8):375-8.
85. Fuente A de la, Zanca R, Boni R, Cataldi AG, Sollini M, Lazzeri E, et al. Miniaturized Radiochemical Purity Testing for 99mTc-HMPAO, 99mTc-HMDP, and 99mTc-Tetrofosmin. *J Nucl Med Technol.* 1 sept 2017;45(3):236-40.
86. Borghi M, Fournier L, Odouard E, Jean ABP. Amélioration des méthodes séparatives du Tc réduit et de l'oxidronate technétié. :1.

87. Williams CC. Re: Radiochemical Purity of Tc-99m Oxidronate. *J Nucl Med.* 1 nov 1981;22(11):1015-1015.
88. Banerjee S, Ambikalmajan Pillai MR, Ramamoorthy N. Evolution of Tc-99m in diagnostic radiopharmaceuticals. *Semin Nucl Med.* 1 oct 2001;31(4):260-77.
89. Mang'era K, Wong D, Douglas D, Franz K, Biru T. Evaluation of alternative rapid thin layer chromatography systems for quality control of technetium-99m radiopharmaceuticals. *Appl Radiat Isot.* avr 2014;86:57-62.
90. Amin KC, Patel S, Doke A, Saha GB. An alternative method for determining the radiochemical purity of 99mTc-tetrofosmin. *J Nucl Med Technol.* mars 2011;39(1):51-4.
91. Eggert LA, Dick MD, Mahoney DW, Olson JP, Werner GL, Hung JC. A rapid radiochemical purity testing method for 99mTc-tetrofosmin. *J Nucl Med Technol.* juin 2010;38(2):81-4.
92. Métayé T, Desmarquet M, Rosenberg T, Guilhot J, Bouin-Pineau MH. Rapid quality control for testing the radiochemical purity of 99Tc(m)-tetrofosmin. *Nucl Med Commun.* oct 2001;22(10):1139-44.
93. Gómez JL, Vega F, Peñafiel A, Daumal J, Peña C, Montsech L, et al. [An alternative method to determine the radiochemical purity of the 99mTC-tetrofosmine preparations]. *Rev Esp Med Nucl.* 1999;18(2):94-8.
94. van Hemert FJ, Schimmel KJ, van Eck-Smit BL. A rapid and stable ITLC procedure for the determination of the radiochemical purity of 99Tcm-tetrofosmin. *Nucl Med Commun.* juin 2001;22(6):641-4.
95. McKay BF, Zimmer AM, Spies SM. Rapid miniaturized chromatography for technetium-99m-tetrofosmin. *J Nucl Med Technol.* mars 1997;25(1):52-4.
96. Patel M, Owunwanne A, Tuli M, Al-Za'abi K, Al-Mohannadi S, Sa'ad M, et al. Modified Preparation and Rapid Quality Control Test for Technetium-99m-Tetrofosmin. *J Nucl Med Technol.* 1 déc 1998;26(4):269-73.
97. Moati F, Quartarone C, Jourdain J, Rizzo N, Dumont A, Beco VD, et al. Controle de la purete radiochimique d'un radiopharmaceutique: etude du 99mTc-Tetrofosmin (Myoview). *Med Nucleaire.* 1997;6(21):375.
98. Faria DP, Buchpiguel CA, Marques FLN. Alternative chromatographic system for the quality control of lipophilic technetium-99m radiopharmaceuticals such as [99mTc(MIBI)6]+. *Braz J Med Biol Res.* 3 mars 2015;48(10):902-7.
99. Luebke AL, Wilary DM, Mahoney DW, Hung JC. Evaluation of an Alternative Radiochemical Purity Testing Method for Technetium-99m-Sestamibi. *J Nucl Med Technol.* 1 déc 2000;28(4):259-63.
100. Zimmer AM, Spies SM. Quality Control Procedures for Newer Radiopharmaceuticals. *J Nucl Med Technol.* 1991;19(4):5.
101. Hung JC, Wilson ME, Brown ML, Gibbons RJ. Rapid Preparation and Quality Control Method for Technetium-99m-2-Methoxyisobutyl Isonitrile (Technetium-99m-Sestamibi). :7.

102. Proulx A, Ballinger JR, Gulenchyn KY. Routine determination of radiochemical purity of ^{99m}Tc -MIBI. *Int J Rad Appl Instrum [A]*. 1 janv 1989;40(1):95-7.
103. Hung JC, Taggart TR, Wilson ME, Owens TP. Radiochemical purity testing for ^{99m}Tc -exametazime: a comparison study for three-paper chromatography. *Nucl Med Commun*. juill 1994;15(7):569-74.
104. Mallol J, Bonino C. Comparison of radiochemical purity control methods for Tc-^{99m} radiopharmaceuticals used in hospital radiopharmacies. *Nucl Med Commun*. 1 juin 1997;18:419-22.
105. Guide for the elaboration of monographs on radio-pharmaceutical preparations. European Pharmacopoeia. 2018. Disponible sur: <https://www.edqm.eu/documents/52006/66555/07-elaboration-monographs-radio-pharmaceutical-preparations-october-2018.pdf/50c9d3d8-ec14-10b9-40b7-ceedd94e3afb?t=1623146155879>
106. Elsinga P, Todde S, Penuelas I, Meyer G. Guidance on current good radiopharmacy practice (cGRPP) for the small-scale preparation of radiopharmaceuticals. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 1 mai 2010;37(5):1049-62.
107. Zolle I, Bremer PO, Jánoki Gy. Monographs of ^{99m}Tc Pharmaceuticals. In: Zolle I, éditeur. *Technetium-99m Pharmaceuticals* [Internet]. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2007 [cité 22 mai 2022]. p. 173-337. Disponible sur: http://link.springer.com/10.1007/978-3-540-33990-8_12
108. Jacquot Y, Zoubir B, Xicluna A, Bidet AC. [Research of $^{99m}\text{TcO}_4^-$ and $^{99m}\text{TcO}_2^-$ in injectable solutions of ^{99m}Tc -HMDP by inverse phase HPTLC]. *Ann Pharm Fr*. janv 2006;64(1):63-7.
109. Akhtar M, Mushtaq A, Haider I, Aziz A, Karim HMA. Technetium(99m)-tin colloid: A simple method for the preparation and evaluation. *J Radioanal Nucl Chem*. 1 déc 1990;146(6):415-20.

Annexe I

Trousses (de A à Z)	PRC	Bandelettes et Conditionnement	Volume dépôt	Séchage	Phase Mobile	Dépôt	Distance migration	Rf
CERETEC® Exametazine	>80%	CQ à réaliser 30min après reconstitution GMCP-SA (2 x 20cm)	1 gtte	non	A/ Méthyléthylcétone (MEK) B/ NaCl 0.9%	2 cm	14 cm	Système A : Rf=0 : ^{99m} Tc-R + ^{99m} Tc-complexe II Rf=1 : ^{99m} TcO ₄ - + ^{99m} Tc-complexe lipophile Système B : Rf=0 : ^{99m} Tc-R + ^{99m} Tc-cpx II et lipoo , Rf=0.8-1 : ^{99m} TcO ₄ -
CHOLEDIAM® Mébrofénine	>95%	Whatman 1 (2.5x >12.5 cm)	1 gtte	oui	A/ acétate d'ammonium 10%/méthanol (v/v) B/ Méthyléthylcétone (MEK)	2.5 cm	10 cm	Système A : Rf=0 : ^{99m} Tc-mébrofénine Rf=1 : ^{99m} TcO ₄ - Système B : Rf=0 : ^{99m} Tc-réduit Rf=1 : ^{99m} Tc-mébrofénine, ^{99m} TcO ₄ -
LYMPHOSEEK® Tilmanocept	>90%	Whatman 1, 3MM, 31ET ou biodex red strips	3 à 10 µL	non	Acétone	1 cm	5 cm	Rf=0 : ^{99m} Tc-complexe Rf=1 : ^{99m} TcO ₄ -
MYOVIEW® Tétrofosmine	>90%	TLC GMCP-SA (2x20 cm)	10µL	non	Acétone/dichlorométhane (65/35)	3 cm	15 cm	Rf=0 : ^{99m} Tc-réduit Rf=0.25 : ^{99m} Tc-tétrofosmin Rf=0,8 : ^{99m} TcO ₄ -
NANOHSAS® Nanocolloïdes d'albumine	>95%	ITLC-SG (méthode 1)	NC	NC	Acétone		10 cm	Rf=0 : nanocolloïdes- ^{99m} Tc Rf=1 : ^{99m} TcO ₄ -
NANOHSAS® Nanocolloïdes d'albumine	>95%	ITLC-SA (méthode 2)	NC	NC	MEK		5 cm	Rf=0 : nanocolloïdes- ^{99m} Tc Rf=1 : ^{99m} TcO ₄ -
NANOCIS® Sulfure de rhénium	>95%	Whatman 1 (2.5x >12.5 cm)	1 gtte	non	MEK	2 cm	10 cm	Rf=0 : ^{99m} Tc-complexe Rf=1 : ^{99m} TcO ₄ -
NEPHROMAG® Bétiatide	>94%	HPLC ou cartouche SEP-Pak C18						
OSTEOCIS® Oxidronate	>95%	Whatman 17CHR	1 gtte	non	A/ NaCl 0.9% B/ Méthanol/eau (85 :15)	2.5 cm	NC	Système A : Rf=0 : ^{99m} Tc-R Rf=1 : ^{99m} TcO ₄ - + ^{99m} Tc-oxi. Système B : Rf=0 : ^{99m} Tc-R + ^{99m} Tc-oxi. Rf=1 : ^{99m} TcO ₄ -

Trousses (de A à Z)	PRC	Bandelettes et Conditionnement	Volume dépôt	Séchage	Phase Mobile	Dépôt	Distance migration	Rf
PENTACIS® Pentétate	>95%	ITLC-SG ou Whatman 1 préalablement chauffée à 110°C pdt 10min	5 à 10 µL	non	A/ NaCl 0.9% B/ MEK	2 cm	10 cm	Système A : Rf=0 : 99mTc-R Rf=1 : 99mTcO4- + 99mTc-pent. Système B : Rf=0 : 99mTc-R + 99mTc-pent. Rf=1 : 99mTcO4-
PHYTACIS® Phytate	>95%	Whatman 1	1 gtte	non	Méthanol/eau (80/20)		NC	Rf=0 : 99mTc-phytate Rf=0.6 : 99mTcO4-
PULMOCIS® Macroagréats d'albumine	>90%	Radioactivité non filtrable avec filtre en polycarbonate						
RENOCIS® Acide dimercaptosuccinique	>95% et TcO4- <2%	Whatman 1 (2.5 x >12.5 cm)	1 gtte	non	MEK	2.5 cm	10 cm	Rf=0 : 99mTc-DMSA Rf=1 : 99mTcO4-
STAMICIS® Tétrafuoroborate de tétrakis	>94%	IB-FTLC (2.5 x 7.5cm) Déposer 1 gtte éthanol au préalable	1 gtte	oui	Ethanol 768g/L	1.5 cm	5 cm	Rf=0 : 99mTcO4- Rf=1 : 99mTc-sestamibi
SCINTIMUN® Bésilésomab	>95%	ITLC-SG ou RBM-1 (2.5x20 cm)	2µL	non	MEK	2.5 cm	17.5 cm	Rf=0 : 99mTc-bésilésomab Rf=1 : 99mTcO4-
TECEOS® Butéfronate (méthode 1)	>95%	A/ Whatman 31ET B/ Whatman 1	1 gtte	non	A/ NaCl 1M B/ MEK	2 cm	10 cm	Système A : Rf=0 : 99mTc-R Rf=1 : 99mTcO4- + 99mTc-oxi. Système B : Rf=0 : 99mTc-R + 99mTc-oxi. Rf=1 : 99mTcO4-
TECEOS® Butéfronate (méthode 2)	>95%	ITLC-SG préalablement chauffée à 110°C pdt 10min	1 gtte	non	A/ Acétate de sodium 1M B/ MEK	2 cm	15 cm	Système A : Rf=0 : 99mTc-R Rf=1 : 99mTcO4- + 99mTc-oxi. Système B : Rf=0 : 99mTc-R + 99mTc-oxi. Rf=1 : 99mTcO4-

Trousses (de A à Z)	PRC	Bandelettes et Conditionnement	Volume dépôt	Séchage	Phase Mobile	Dépôt	Distance migration	Rf
TECHIDA® Acide diéthyl- acétanilide- <i>imino</i> diacétique	>90%	Plaque de verre revêtu d'acide silicique fluorescent F254, préalablement chauffée à 110°C pdt 10min	5 µL	non	NaCl 0.9%		15 cm	Rf=0-0.2 : 99mTc-colloïdal Rf = 0.5-0.7 : ^{99m} Tc-complexe Rf=1 : 99mTcO4-
TECHNESCAN DMSA® Acide dimercaptosuccinique	>95% et TcO4- <2%	ITLC-SG	5 à 10 µL	non	MEK		5 cm	Rf=0 : 99mTc-DMSA Rf=0.8-1 : 99mTcO4-
TECHNESCAN DTPA® Pentétate	>95%	ITLC-SG préalablement chauffée à 110°C pdt 10min	5 à 10 µL	oui	A/ MEK B/ NaCl 0.9%	2 cm	10 cm	Système A : Rf=0 : 99mTc-R+99mTc-DTPA Rf=1 : 99mTcO4- Système B : Rf=0 : 99mTc-R Rf=1 : ^{99m} Tc-DTPA + ^{99m} TcO4-
TECHNESCAN HDPO® Oxidronate	>95% TcO4- <2%	ITLC-SG	5 à 10 µL	oui	A/ NaCl 0.9% (136g/L) B/ MEK		10 cm	Système A : Rf=0 : 99mTc-R Rf=1 : 99mTcO4- + 99mTc-oxi. Système B : Rf=0 : 99mTc-R + 99mTc-oxi. Rf=1 : 99mTcO4-
TECHNESCAN MAG3® Bétiatide	>95%	HPLC ou SEP-Pak C18						
TEKTROTYD® EDDA/Octréotide (méthode 1)	>90%	2 x ITLC-SG (2x10 cm)	5 µL	non	A/ MEK B/ Acétonitrile/eau (1/1)	1 cm	8.5 cm	Système A : Rf=0 : ^{99m} Tc-EDDA/HYNIC-TOC Rf=0.5 à 1 : 99mTcO4- Système B : Rf=0 à 0.3 : 99mTc colloïdal Rf=1 : ^{99m} Tc-EDDA/HYNIC-TOC
TEKTROTYD® EDDA/Octréotide (méthode 2)	>90%	2 x ITLC-SA (1x8 cm)	1 à 2 µL	non	A/ MEK B/ Acétonitrile/eau/acide acétique glacial (1/1/2)	1 cm	5 cm	Système A : Rf=0 : ^{99m} Tc-EDDA/HYNIC-TOC Rf>0.8 : 99mTcO4- Système B : Rf<0.2 : 99mTc colloïdal Rf=1 : ^{99m} Tc-EDDA/HYNIC-TOC
VASCULOCIS® Sérum d'albumine	>95%	Whatman 1 (2.5 x >17.5 cm)	1 gtte	oui	Méthanol/eau (80/20)	2.5 cm	15 cm	Rf=0 : 99mTc-SAH Rf=0.6 : 99mTcO4-

Serment de Galien

Je jure, en présence de mes maîtres de la Faculté, des conseillers de l'Ordre des pharmaciens et de mes condisciples :

- d'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.

- d'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.

- de ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine, de respecter le secret professionnel.

En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre, méprisé de mes confrères, si j'y manque.