

# Nuklearmedicinsk utbildningsdag 16 maj i Örebro

Kvalitetskontroller av läkemedel  
( $^{99}\text{Tc}^m$  radiofarmaka)

Lennart Bergqvist, sjukhusfysiker  
Strålningsfysik, SUS i Lund

# RADIOFARMAKA

```
graph TD; A[RADIOFARMAKA] --- B(RADIONUKLID); A --- C(FARMAKA); B --> D("MÄRKNING"); C --> D; D --> E[Kvalitetskontroll?]
```

RADIONUKLID

FARMAKA

"MÄRKNING"

Kvalitetskontroll?

## **Märkning och kvalitetskontroll**

- Industriell tillverkning – omfattande kvalitetskontroller
- Tillverkning på sjukhus (t ex PET-radiofarmaka) – omfattande kontroller
- Beredning av  $^{99}\text{Tc}^m$ -kit – ”radiokemisk renhet kan kontrolleras”

## **Spårämnesmängder vid diagnostik**

- Radionuklid ca  $10^{-10}$  g
- Farmaka ca 0,5 - 230 mg

# $^{99}\text{Tc}^m$ -kit



$^{99}\text{Tc}^m$   
natriumperteknetat  
(i 0.9% NaCl-lösning)



Aktiva ämnet och  
hjälpämnen  
(reduktionsmedel  
pH-justerare  
ev. stabilisator  
kvävgas)

Frystorkat i  
10-20 ml kitflaska



$^{99}\text{Tc}^m$ -märkt kit

## Typer av radiokemiska föreningar i $^{99}\text{Tc}^m$ -beredningar

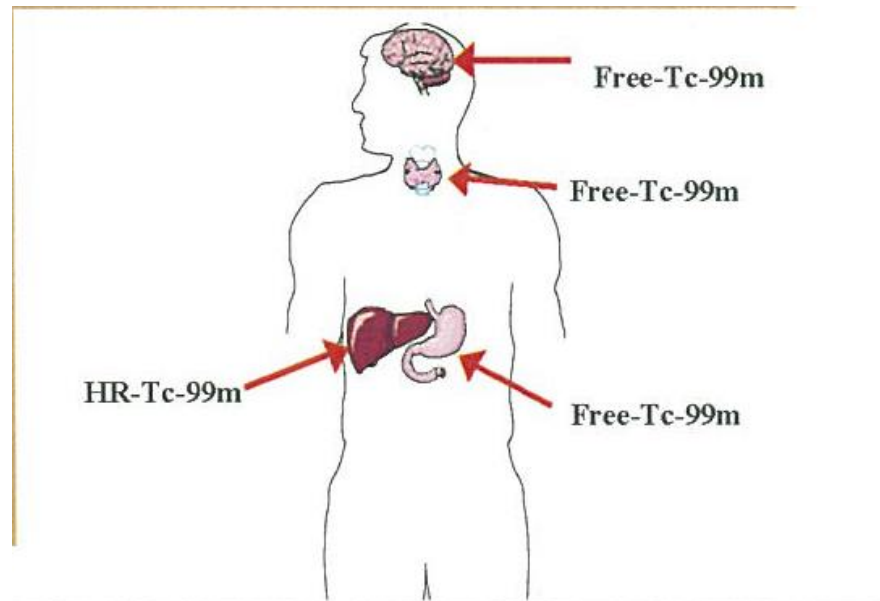
Från  $^{99}\text{Tc}^m$ -generatoren kommer  $^{99}\text{Tc}^m$  i form av natriumperteknetat ( $\text{NaTcO}_4$ ).

Vid märkning måste först teknetiums oxidationstal +7 reduceras till +4 med ett reduktionsmedel, vanligen  $\text{Sn}^{2+}$  (tennoxid eller tennklorid-dihydrat).

Därefter kan en reaktion ske för att få den önskade  $^{99}\text{Tc}^m$ -märkta beredningen.

Radiokemiska föreningar kan vara:

- Fritt perteknetat ( $^{99}\text{Tc}^m\text{O}_4^-$ )
- Reducerat hydrolyserat  $^{99}\text{Tc}^m$  (kan ge olösliga kolloidpartiklar)
- Andra märkta kemiska föreningar



## ”Märkningseffektivitet” = radiokemisk renhet

Tillverkare av kit anger  $\geq 80\%$  (oftast  $\geq 95\%$ ) radiokemisk renhet.

Vad kan ge en sämre radiokemisk renhet?

Transport och lagring:	Felaktig temperatur och/eller ljuspåverkan
Luft tränger in i kitflaskan:	Otät propp eller via kanyl vid beredning (kan ge oxidering)
Hållbarhet:	Olika $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ - beredningar håller mellan 30 min – 12 tim
Radiolys:	För hög aktivitet kan skada molekylbildningar
Dåligt upplöst pulver:	Dålig omskakning vid beredning

# Kvalitetskontroll av $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -kit

## Varför kan det behövas?

- Kontroll av ny batch. Transport och lagring kan ge skador pga kitets oxidations-, ljus- och temperaturkänslighet.
- Radiokemiska föroreningar kan ge upphov till försämrad undersökning med eventuell felaktig diagnos.
- Kvalitetskontrollen kan stoppa en dålig kitberedning. Besparar patienten förlorad tid och onödig bestrålning. För kliniken kan det ge ökad effektivitet.

## När görs det (i Lund)?

- Om det finns krav på detta
- Vid ny leverans eller nytt batchnummer
- Då gammakamerabild ger misstanke om förorening
- Vid modifieringar av tillverkarens märkningsinstruktioner
- Som kvalitetsbedömning vid val mellan olika tillverkare

## Typer av kvalitetskontroller

Fysikaliskt-kemiska metoder kan kontrollera:

- **Radionuklidparametrar (radionuklidrenhet, aktivitet)**
- **Radiokemiska parametrar (renhet, föroreningar)**
- **Kemiska parametrar (kemisk renhet, pH, jonstyrka)**
- **Fysikaliska parametrar (partikelstorlek, storlek-aktivitetsfördelning)**

Biologiska metoder kan kontrollera:

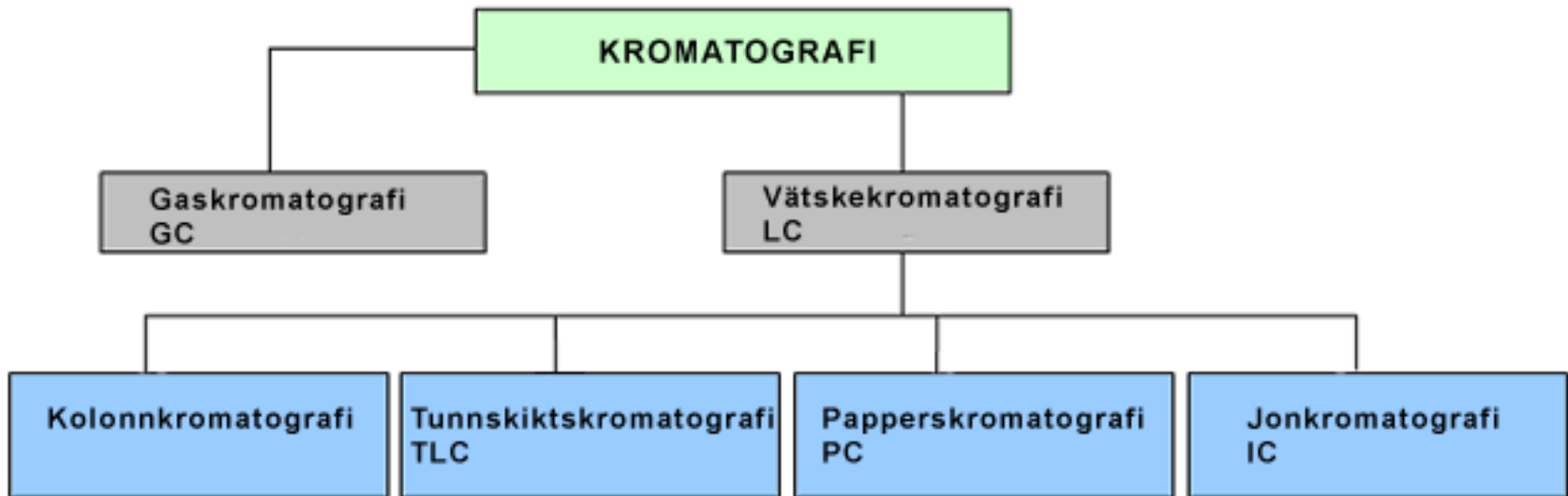
- **Sterilitet**
- **Endotoxiner**



## Radiokemiska testmetoder

Följande kromatografiska metoder rekommenderas av tillverkaren för radiokemisk analys av  $^{99}\text{Tc}^m$  kit:

- Papperskromatografi (PC)
- Tunnskikt-kromatografi (TLC)
- "Reversed-phase" kromatografi (RPC)
- "High Performance Liquid Chromatography" (HPLC)



## Kvalitetskontroll av $^{99}\text{Tc}^m$ -kit enligt tillverkarnas produktresumé

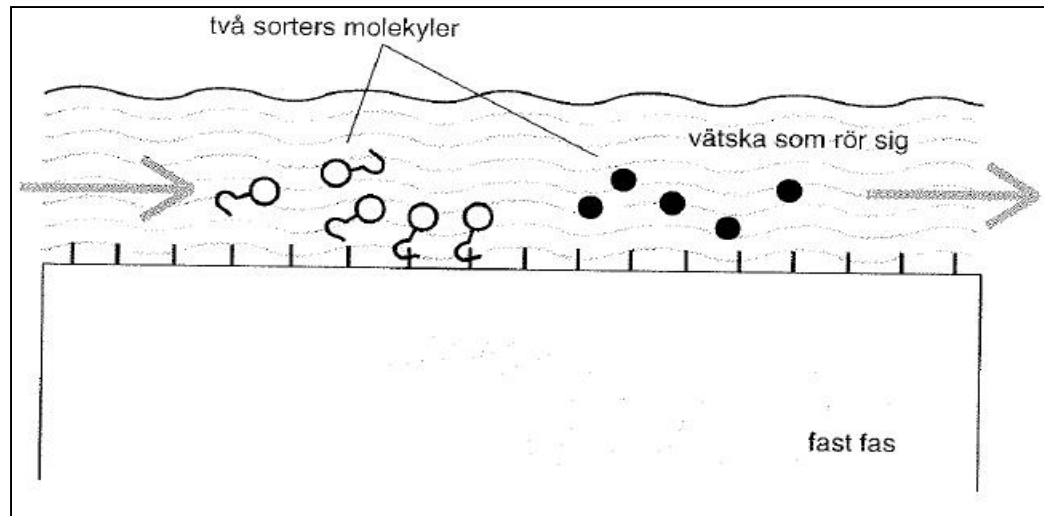
Kit	Metod 1	Metod 2	Renhet
Ceretec Stabilised	Instant TLC		$\geq 80\%$
Renocis DMSA	PC		$\geq 95\%$
Technescan DMSA	Instant TLC		$\geq 95\%$
Technescan HDP	Instant TLC		$\geq 95\%$
Teceos DPD	Instant TLC	PC	$\geq 95\%$
Technescan DTPA	Instant TLC		$\geq 95\%$
LyoMAA	Mikrofiltrering		$\geq 95\%$
Pulmocis MAA	Mikrofiltrering		$\geq 95\%$
MAG3	HPLC	RPC minikolonn	$\geq 90\%$
Myoview	Instant TLC		$\geq 90\%$
Nanocoll	PC	Instant TLC	$\geq 95\%$
Stamicis	TLC med Baker-flex		$\geq 94\%$
Technescan Sestamibi	TLC med Baker-flex		$\geq 94\%$

## Vad är kromatografi?

Med hjälp av kromatografi kan man separera, identifiera och kvantifiera olika komponenter i en lösning (t ex  $^{99}\text{Tc}^m$  - kit).

Kromatografi bygger på användningen av en fast fas och en rörlig fas (vätska). Komponenterna som skall separeras befinner sig i den rörliga fasen.

Olika ämnen har olika kemiska och fysiologiska egenskaper. Detta gör att ämnena bromsas i varierande grad av den fasta fasen.



Olika detektorer kan användas vid analys (t ex radioaktivitets-detektor).

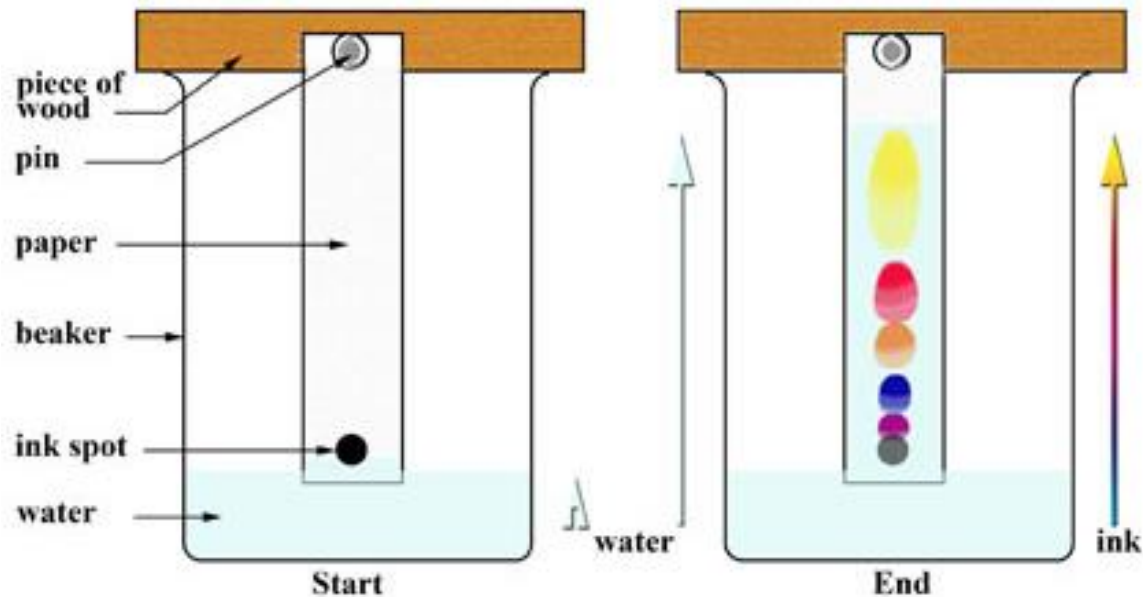
## Viktigaste separationsmekanismer för PC och TLC

- ❖ Adsorption – separering pga skillnader i komponenters adsorption till fasta fasen. Komponenter med minst adsorption vandrar längst.
- ❖ Polaritet - normalt hålls polära komponenter kvar av fasta fasen. Opolära komponenter vandrar med den rörliga fasen.

# Papperskromatografi (PC)

Vid papperskromatografi används filterpappers-liknande remsor av ren cellulosa.

- Sätt en droppe av  $^{99}\text{Tc}^m$ -beredningen nära ena kortsidan av remsan.
- Kortsidan doppas sedan ner i ett lösningsmedel (eluent, rörlig fas).
- Remsan hålls inne i en kammare med tätslutande lock. Luften i kammaren ska vara mättad med lösningsmedlets ånga.
- Kapillärkraften gör att lösningsmedlet sugs upp i remsan, passerar droppen med  $^{99}\text{Tc}^m$ -beredningen och vandrar mot den andra kortsidan.
- Ger separation av föreningar som sedan kan kvantifieras med lämplig detektor.





Whatman dominerar marknaden.

Kromatografipapper finns med olika egenskaper:

- Ytstruktur ("Grade")
- Tjocklek
- Sugförmåga

PC remsor kan användas för kvalitetskontroll av Renocis (DMSA) och Nanocoll

# Tunnskiktskromatografi (TLC)

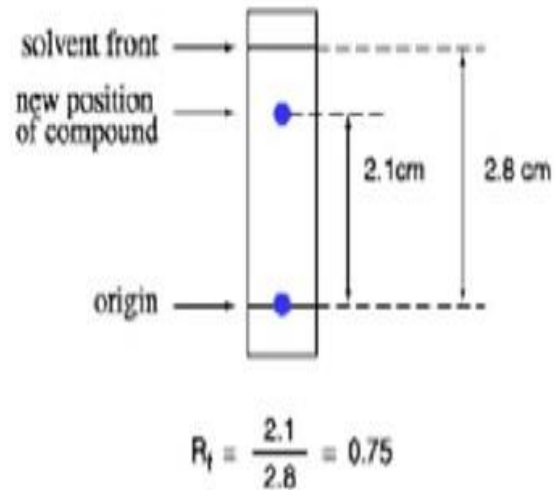
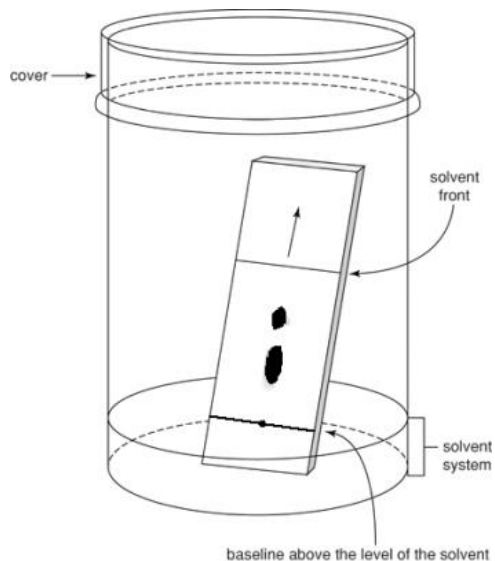
TLC-metoden är likartad med PC-metoden.

Remsan behöver inte hängas upp i locket eftersom den består av:

- Ett skiktmaterial (aktiva delen) – t ex kiselgel, aluminium-oxid eller cellulosa
- Ett stödmaterial – t ex glas, plast eller aluminium

Vanlig typ för  $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -beredningar är iTLC-SG ("instant TLC Silica Gel"), dvs kiselgel-impregnerade glasfiberremsor.

R<sub>f</sub>-värdet ("retention factor") anger hur långt en substans når i förhållande till vätskefronten.





iTLC-SG remsor används för kvalitetskontroll av Ceretec, DMSA, DPD, DTPA, HDP, Myoview och Nanocoll





Baker-flex remsor har aluminium-oxid som skiktmaterial och plast som stödmaterial.

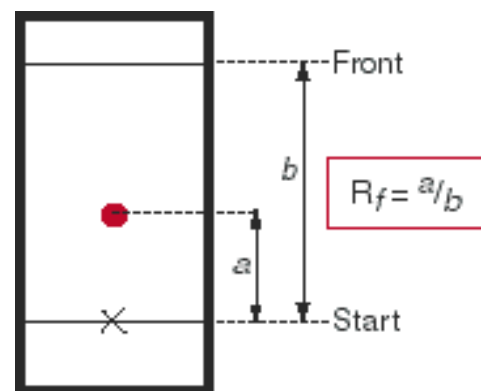
Används för kvalitetskontroll av Stamicis och Sestamibi.

## Exempel: Kvalitetskontroll av Nanocoll med TLC

Utrustning för tunnskiktskromatografi (TLC) är iTLC™SG 1x8 cm remsa, elueringsvätska i försluten glasbägare och aktivitetsmätare eller skanner.

Anpassning av tillverkarens rekommenderade metod beskrivs nedan.

1. Som rörlig fas används metanol: vatten 85:15 v/v.
2. Markera startpunkten på en 1x8 cm iTLC-remsa med blyerts, 1 cm från ena kortsidan.
3. Med en 1 ml spruta eller pipett sätts en liten droppe (ca 3-5  $\mu$ l) av beredningen vid startpunkten.
4. För remsan med pincett ner i glasbägaren. Förslut.
5. Avbryt efter ca 7 minuter då lösningsfronten når andra kortsidan.



6. Skanna remsan eller klipp remsan i två delar, 2 cm nedanför fronten.
7. Fritt perteknetat vandrar med elueringsvätskans front ( $R_f = 0,8-1,0$ ).  $^{99}\text{Tc}^m$ -Nanocoll stannar vid startpunkten ( $R_f = 0,0-0,1$ ). Andelen fritt perteknetat beräknas.
8. Den radiokemiska renheten ska vara minst 95 %.



Skanner

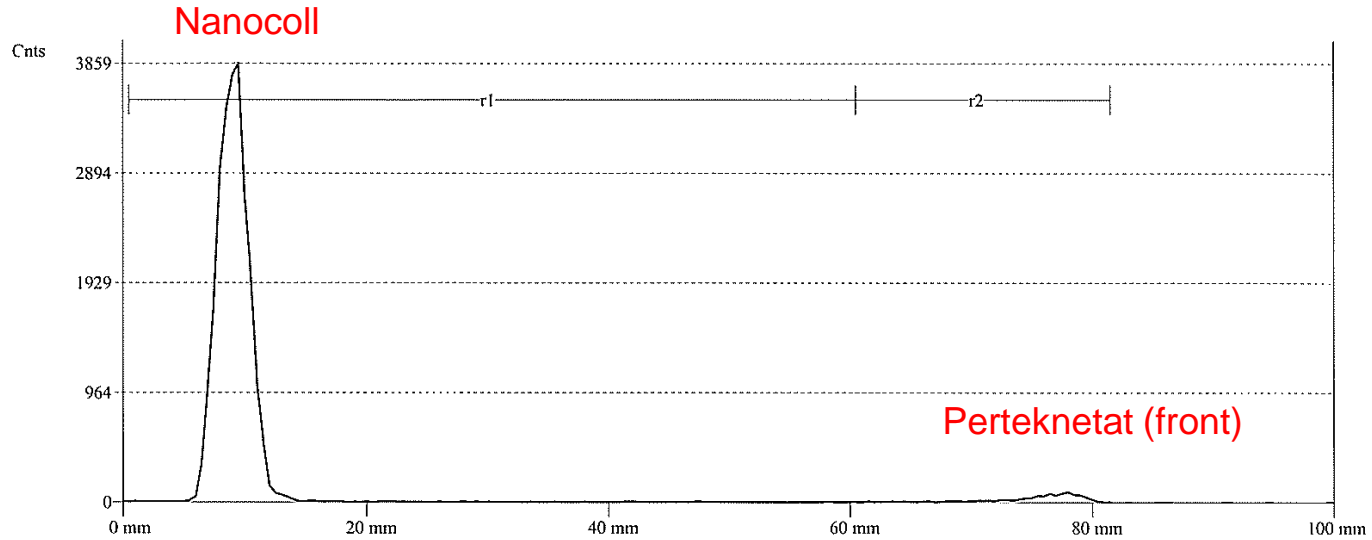
# Nanocoll. ITLC

Batch F002 15028

Database Id: 295

Isotope: Tc-99m

Date: 2016-07-19 10:01:39



## Acquisition

Real time: 600.00s

Length: 100.0 mm

Scan Window: 110.0 - 170.0 keV

Counts: 25206

Live time: 599.57s (0.1 % Dead time)

Background Sub: 6 counts per channel

Peak: 3859 counts @ 9.5 mm

## Regions of Interest

Number	Range	Counts	% of total
r1	0.5 - 60.0 mm	24226	96.1 %
r2	60.5 - 81.0 mm	946	3.8 %

### Fördelar med PC och TLC-metoder:

- Enkel, snabb metod (tar ca 15-30 minuter).
- Lätt att kvantifiera resultat (skanning av remsa eller klippning i två delar).

### Nackdelar:

- I regel kan bara en förorening bestämmas per remsa (2 remsor kan behövas)
- Liten provvolym (några  $\mu\text{l}$ ) kan ge osäkerhet i mätvärden.

## Eluenter vid TLC och PC för $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -kit enligt tillverkarnas produktresuméer

Kit	Metod	Eluent(er)	Identifiering
Ceretec Stabilised	iTLC	MEK 0,9% NaCl	Sekundärt exametazim och HR Perteknetat
Renocis DMSA	PC	MEK	Perteknetat
Technescan DMSA	iTLC	MEK	Perteknetat
Technescan HDP	iTLC	MEK 13,6 % natriumacetat	Perteknetat Hydrolyserat Tc och kolloidalt
Teceos DPD	iTLC	MEK 1 M natriumacetat	Perteknetat Hydrolyserat Tc
Technescan DTPA	iTLC	MEK 0,9% NaCl	Perteknetat Kolloidala föroreningar
Myoview	iTLC	MEK 0,9% NaCl	Hydrofil Tc-förorening och HR Perteknetat
Nanocoll	PC och iTLC	Metanol:vatten 85:15	Perteknetat
Stamicis	TLC med Baker-flex	96 % etanol	"Föroreningar"
Technescan Sestamibi	TLC med Baker-flex	>95 % etanol	"Föroreningar"

MEK = Metyletylketon, HR = hydrolyserat reducerat Tc

# Kolonnkromatografi

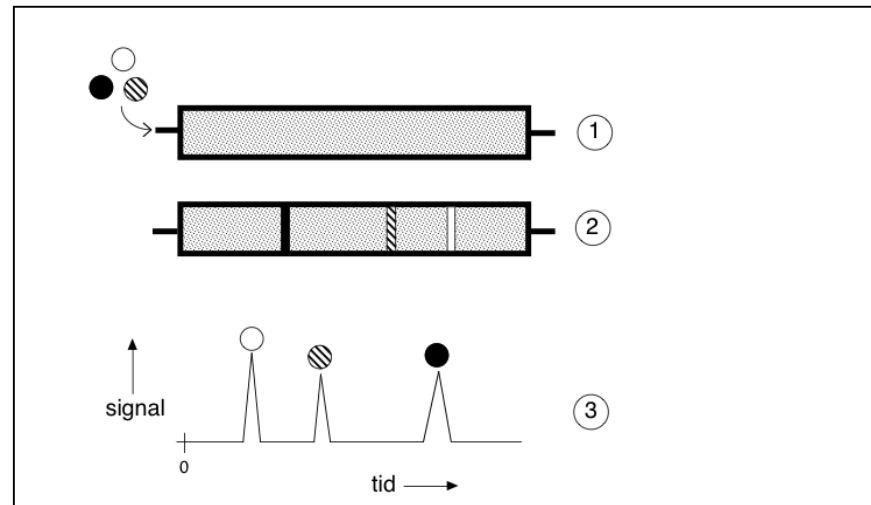
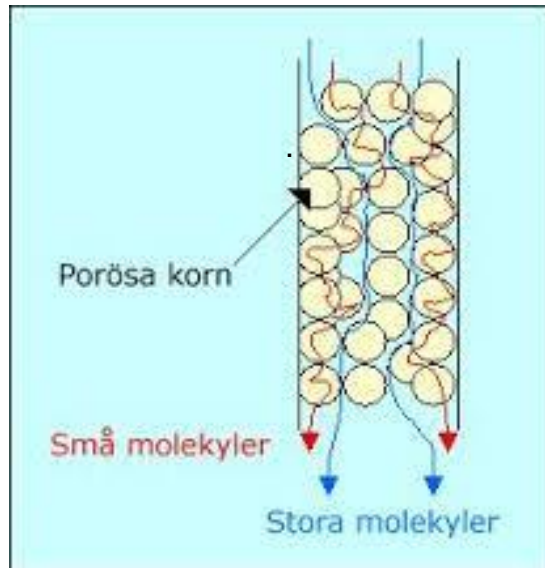
## Kolonn:

En kolonn innehåller en gel med porösa korn.

En droppe av  $^{99}\text{Tc}^m$  –beredningen sätts på gelytan. Då en vätska trycks genom kolonnen sker separation av komponenter.

Komponenternas olika kemiska egenskaper gör att de vandrar olika snabbt genom kolonnen.

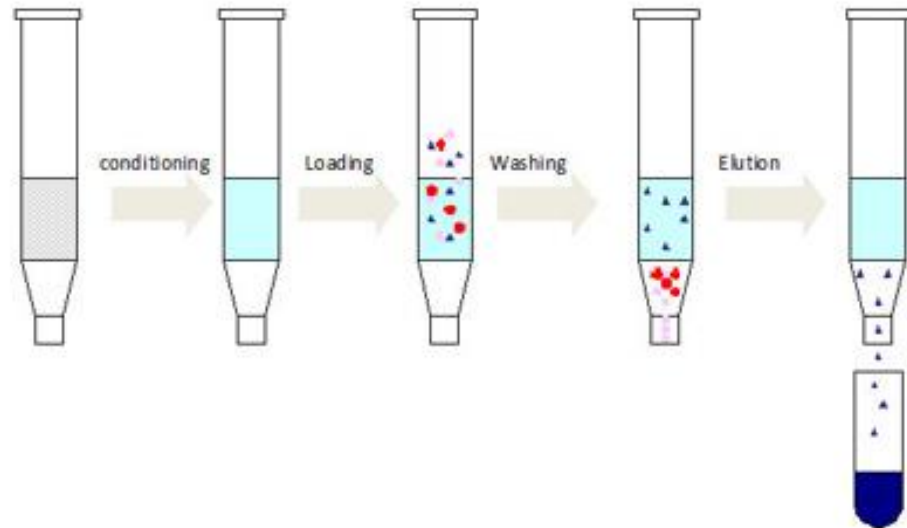
Tiden för hur länge ett ämne befinner sig inne i kromatografen kallas retentionstid.



## Detektor:

De separerade ämnena kan sedan detekteras t.ex. med hjälp av en radioaktivitetsdetektor eller UV-absorbansdetektor, vars utslag är proportionell mot koncentrationen av ämnena i provet.

## ”Reversed-phase” kromatografi (RPC)



RPC kallas även hydrofobisk kromatografi eftersom gelen är hydrofob (vattenavvisande).

Gelen består av kisel, bunden till en kolkedja. Vanligast är den så kallade C<sub>18</sub>-typen med strukturen  $-\text{Si}-\text{C}_{18}\text{H}_{37}$ . Samma typ som finns i HPLC kolonn.

Hydrofoba och lipofila (fettälskande) komponenter bromsas upp i kolonnen medan vattenlösliga (hydrofila) komponenter passerar genom kolonnen.

RPC används för MAG3.

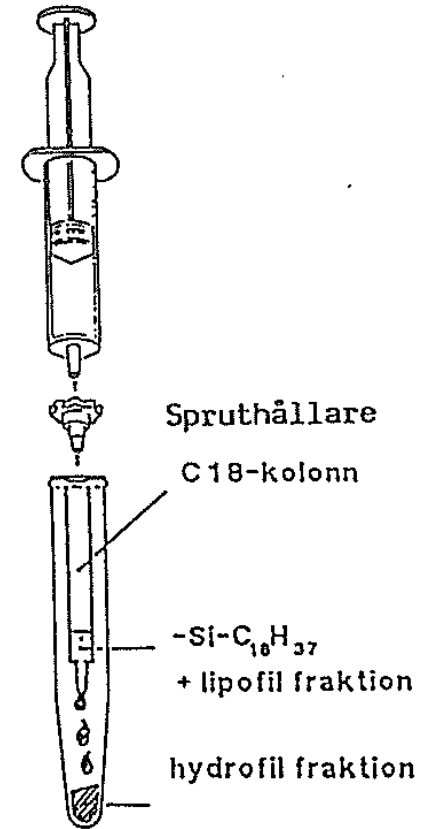


## Exempel: Kvalitetskontroll av TechneScan MAG3

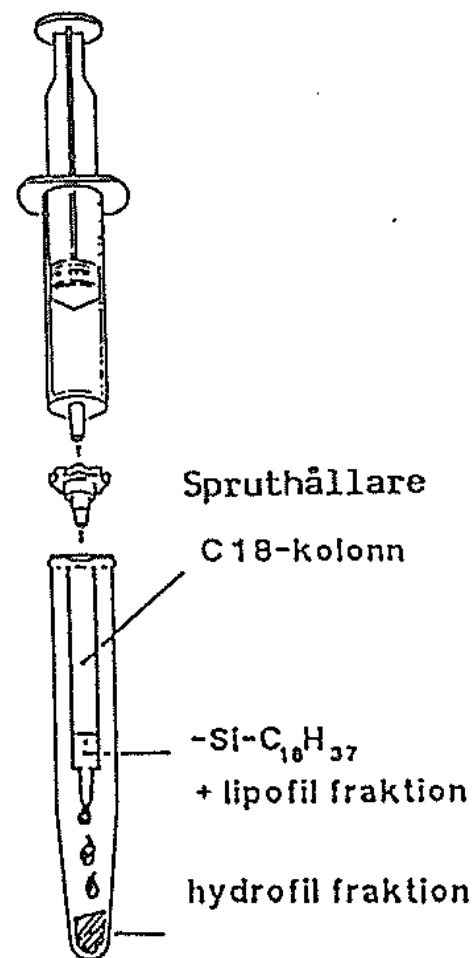
Utrustning för RPC kromatografi är minikolonner av C<sub>18</sub>-typ, 0,9 % NaCl för eluering, kolonnadapter (spruthållare), 2,5 ml spruta, provrör och aktivitetsmätare.

Förenklad metod (tillverkarens rekommenderade metod är mer komplicerad).

1. Fäst spruthållaren i en RPC minikolonn.
2. Förbehandla kolonnen genom att droppvis skölja igenom 2 ml 0,9 % natriumklorid med 0,5 ml luftspalt i en 2,5 ml spruta.
3. Avbryt då vätskenivån kommer i nivå med gelytan.
4. Ta bort spruthållaren och applicera en droppe av <sup>99</sup>Tc<sup>m</sup>-MAG3 direkt på gelytan med en 1 ml spruta.
5. Sätt på spruthållaren igen och placera ett provrör under kolonnen för uppsamling av vätska.



6. Eluera droppvis igenom 2 ml 0,9 % natriumklorid med 0,5 ml luftspalt i en 2,5 ml spruta.
7. Ta bort spruthållaren, förslut kolonn och provrör.
8. Mät aktiviteten i provröret (A) och i kolonnen (B). I kolonnen fastnar föroreningarna reducerat teknetium och lipofila komplex. I provröret finns  $^{99}\text{Tc}^m$ -tiatid (MAG3) och perteknetat.
9. Beräkna den radiokemiska renheten enligt  $100 \times A / (A+B)$ . Andelen perteknetat kan inte åtskiljas med denna metod.
10. Den radiokemiska renheten ska vara minst 90 %.



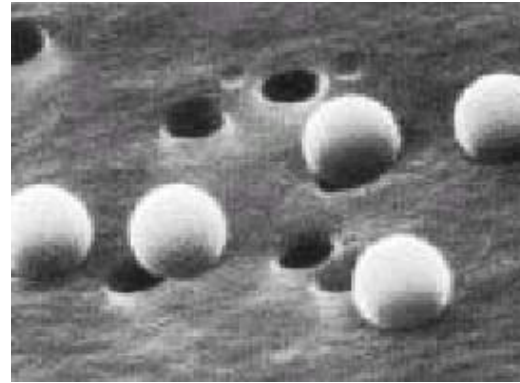
## Fysikalisk kvalitetskontroll av $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -kit

Kolloider:	<p>Nanocoll för lymfscintigrafi.</p> <p>95 % av partiklarna har en diameter mindre än 80 nm.</p> <p>Ingen rekommendation längre att kontrollera om det finns partiklar &gt;80 nm.</p>
Makroaggregerat albumin:	<p>LyoMAA och Pulmocis för lungperfusionsscintigrafi.</p> <p>Omkring 95 % av partiklarna är mellan 10-100 <math>\mu\text{m}</math> i diameter.</p> <p>Rekommenderas att kontrollera andelen aktivitet som passerar ett 3 <math>\mu\text{m}</math> filter.</p>

## Några tekniker för fysikalisk kvalitetskontroll

Teknik	Storleks- område	Storlek/ antal	Storlek/ aktivitet	Form
Transmissions- elektronmikroskopi	0,2 nm -	X		X
Svepelektron- mikroskopi	10 nm -	X		X
<b>Mikrofiltrering</b>	15 nm – 12 $\mu$ m		<b>X</b>	
Ultrafiltrering	1 – 50 nm		X	
Ljusspridnings- spektroskopi	1 nm – 10 $\mu$ m	X		

## Mikrofiltrering (Nuclepore-filtrering)



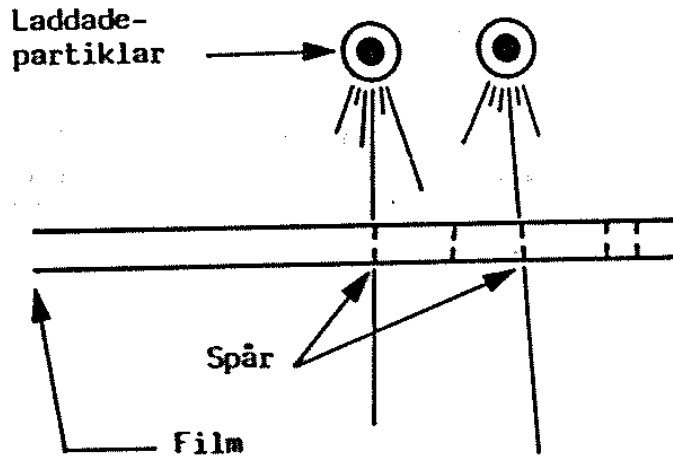
Nuclepore-filter (25 mm diam) består av polykarbonat-membran.  
Det finns filter med väldefinierade hål mellan 0,015  $\mu\text{m}$  och 12  $\mu\text{m}$ .



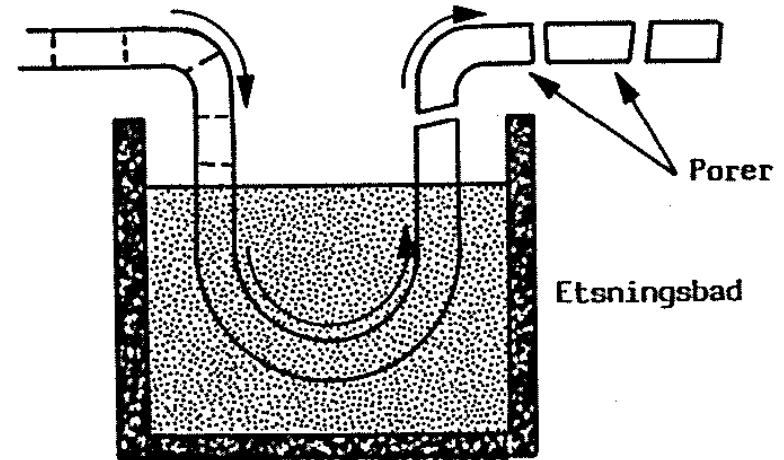
### Tillverkningsmetod:

Steg 1. Filtrens hål tillverkas genom kollimerad bestrålning av laddade partiklar i en reaktor.

Steg 2. Spåren kan etsas i syrabad till släta, cylindriska porer av önskad håldiameter genom att kontrollera etsningstiden.



Steg 1:



Steg 2:



## Exempel: Kvalitetskontroll av LyoMAA

Utrustning för mikrofiltrering är Nuclepore-filter (3  $\mu\text{m}$ ), filterhållare, 0,9 % NaCl, 10 ml spruta, 10 ml flaska och aktivitetsmätare.

1. Ta fram ett 3  $\mu\text{m}$  Nuclepore-filter och lägg på filterhållarens yta. Sätt på O-ringen och skruva ihop.
2. Kontrollera tätning och filter genom att långsamt skölja igenom med 5 ml 0,9 % NaCl. Lite motstånd ska kännas.
3. Skruva isär filterhållaren och sätt 1-2 droppar LyoMAA på filtret.
4. Skruva ihop filterhållaren och anslut en 10 ml flaska med två kanyler isatta.
5. Skölj långsamt igenom med 5 ml 0,9 % NaCl följt av några ml luft.
6. Mät radioaktiviteten i flaskan och i filterhållaren.
7. Andelen aktivitet i flaskan beräknas. Denna andel utgörs av perteknetat och partiklar  $<3 \mu\text{m}$ . Får vara högst 5 %.





## Kvalitetskontroller av kit i Lund år 2016-17

Kit	Metod	Antal	Renhet	Gräns
Ceretec Stabilised	iTLC	6	83,6-88,1 %	≥80 %
Technescan HDP	iTLC	5	95,0-99,1 %	≥95 %
Technescan DTPA	iTLC	6	99,9-100 %	≥95 %
Technescan LyoMAA	Mikrofiltrering	13	97,1-99,8 %	≥95 %
Technescan Sestamibi	TLC med Baker-flex	5	98,2-99,1 %	≥94 %
MAG3	RPC kolonn	7	96,3-98,0 %	≥90 %
Myoview	iTLC	12	98,3-99,9 %	≥90 %
Nanocoll	iTLC	9	95,5-100 %	≥95 %
Stamicis	TLC med Baker-flex	5	98,8-99,2 %	≥94 %
Renocis DMSA	PC	3	99,2-100 %	≥95 %
Teceos DPD	iTLC	4	97,8-99,4 %	≥95 %

**TACK!**