



CURIUM™
LIFE FORWARD

Kleiner Ratgeber

NUKLEAR- MEDIZIN

F. J. Gildehaus

Qualitätssicherung im
Nuklearmedizinischen Labor

Dieser Ratgeber wurde überreicht von Curium Deutschland.

Die Qualitätskontrolle von Radiopharmaka ist ein wesentliches Element der Qualitätssicherung im nuklearmedizinischen Labor.

Nach der Novellierung des Arzneimittelgesetzes 2009 und des Inkrafttretens der Neufassung der Richtlinie Strahlenschutz im November 2011 rücken die Ansprüche an die Qualität der vom Anwender selbst hergestellten Präparate verstärkt in den Mittelpunkt. Da gerade arbeitstechnische Fehler die Hauptursache für eine mangelnde radiochemische Reinheit sind, ist es wichtig, entsprechende Anweisungen (SOP's = standardized operation procedures = Standard-Arbeitsanweisungen) für die Präparation und alle wichtigen Arbeitsvorgänge im Labor (Elution, Mo-Durchbruch, Dokumentation etc.) zu erarbeiten. Alle Daten zur Präparation und die Ergebnisse der Qualitätskontrollen sollen zudem dokumentiert werden. Dies erleichtert die Fehler-suche und hilft, auch systematische Fehler bei der Präparation zu vermeiden. Mit Hilfe regelmäßiger Kontrollen kann die gleichbleibende Qualität in der Herstellung kontinuierlich überprüft werden. Dazu gibt es eine Vielzahl einfacher Methoden, mit denen zuverlässig vom Laborpersonal die Qualität des Präparates festgestellt werden kann. Damit lassen sich alle Anforderungen eines Qualitätssicherungssystems erfüllen und können leicht im Rahmen eines Qualitätsmanagements implementiert werden.

Die in diesem Handbuch vorgestellten Methoden der Qualitätskontrolle sollen eine Hilfestellung für das Laborpersonal darstellen, entsprechende qualitätssichernde Maßnahmen einzuführen.

Autor

Dipl. Chem. Dr. rer. medic. Franz Josef Gildehaus

Klinik und Poliklinik für Nuklearmedizin

Klinikum der Ludwig-Maximilians-Universität München

Marchioninistrasse 15

81377 München

Mit einem Dank an Frau Kirsten Brinkbäumer (MTRA, QA) für ihre Unterstützung und an die vielen Kollegen und Kursteilnehmer für viele Anregungen und konstruktive Verbesserungsvorschläge.

Einleitung	4
Grundlagen der Qualitätskontrolle	6
1. Allgemeines	6
2. Radiopharmaka	6
3. Kriterien der Qualitätskontrolle	9
4. Was bringt die Qualitätssicherung im Labor ?	18
Standardarbeitsanweisungen	20
▶ Standardarbeitsanweisung (SOP) zur Durchführung einer Papier- oder Dünnschichtchromatographie	20
▶ Standardarbeitsanweisung (SOP) zur Durchführung einer QC mit Kartuschen	25
Arbeitsanleitungen	30
▶ Qualitätskontrolle von ¹¹¹ In-markierten Antikörpern	30
▶ Qualitätskontrolle von ¹¹¹ In-Octreoscan	31
▶ Qualitätskontrolle von ^{99m} Tc-(V)-DMSA	34
▶ Qualitätskontrolle von ^{99m} Tc-DMSA	36
▶ Qualitätskontrolle von ^{99m} Tc-Diphosphonaten	38
▶ Qualitätskontrolle von ^{99m} Tc-DTPA	42
▶ Qualitätskontrolle von ^{99m} Tc-ECD	44
▶ Qualitätskontrolle von ^{99m} Tc-IDA-Derivaten	45
▶ Qualitätskontrolle von ^{99m} Tc-Kolloiden	47
▶ Qualitätskontrolle von ^{99m} Tc-MAA	48
▶ Qualitätskontrolle von ^{99m} Tc-MAG3	49
▶ Qualitätskontrolle von ^{99m} Tc-markierten monoklonalen Antikörpern	52
▶ Qualitätskontrolle von ^{99m} Tc-MIBI	53
▶ Qualitätskontrolle von ^{99m} Tc-Nanocoll	55
▶ Qualitätskontrolle von ^{99m} Tc-Tetrofosmin	56
▶ Qualitätskontrolle von ^{99m} Tc-UltraTAG RBC	59
▶ Qualitätskontrolle von ^{99m} Tc-HMPAO	60
Materialien und Reagenzien für die QC	62
Anhang Mustervorlagen	64

Die in den letzten Jahren zunehmende Diskussion um Qualitätsstandards in der Medizin gewinnt auch in der Nuklearmedizin an Bedeutung. Die geänderten Vorgaben des Arzneimittelgesetzes (AMG) seit 2009 (demnach die Herstellung von Tc-Kits nach §13 2b AMG unter der unmittelbaren Verantwortung des anwendenden Arztes erfolgt und deshalb als Herstellung der Anzeigepflicht nach §67 AMG unterliegt) und der Neufassung der Richtlinie Strahlenschutz in der Medizin (Kap.6.4 Qualitätssicherung) im Jahr 2011 sind maßgeblich dafür verantwortlich. Die regelmäßige Qualitätskontrolle aller verwendeten Radiopharmaka stellt dabei den wesentlichen Teil des Qualitätssicherungssystems im nuklearmedizinischen Labor dar. In einem solchen System muss neben der Durchführung von Qualitätsprüfungen aber auch die Standardisierung der Arbeitsschritte bei der Präparation und die Dokumentation aller Daten bezüglich Herstellung und Qualität berücksichtigt werden. Damit lassen sich mögliche Fehlerquellen von vornherein ausschließen bzw. auftretende Fehler aufdecken und künftige vermeiden. Ziel aller Qualitätsmaßnahmen ist es, den Anteil von Verunreinigungen in radio-aktiven Arzneimitteln möglichst gering zu halten, um bei minimaler Strahlenexposition des Patienten eine optimale diagnostische Aussage zu erbringen. Dies ist nur die logische Fortführung der Qualitätsansprüche, die seit jeher Ziel der Strahlenschutzverordnung und der Richtlinie Strahlenschutz sind. Die Etablierung eines solchen Systems erfordert allerdings Kenntnisse über deren theoretische und praktische Aspekte, die notwendige Einsicht in und die Akzeptanz dieser Qualitätsansprüche und vor allem das Engagement der beteiligten Mitarbeiter.

Als radioaktive Arzneimittel werden Arzneimittel bezeichnet, die radioaktive Nuklide enthalten und ionisierende Strahlung aussenden. Wegen der Wirkung dieser Strahlung werden sie als Radiotherapeutika oder wegen der Meßbarkeit der Strahlung als Radiodiagnostika zur Funktions- und Lokalisationsdiagnostik verwendet. Die radio-aktiven Nuklide werden entweder im Reaktor (z.B. $^{98}\text{Mo} \rightarrow ^{99}\text{Mo}$) oder im Beschleuniger (z.B. $^{18}\text{O} \rightarrow ^{18}\text{F}$) hergestellt oder als Spaltprodukte ($^{235}\text{U} \rightarrow ^{99}\text{Mo}$) isoliert. Die Herstellung radioaktiv markierter Arzneimittel erfolgt dann durch Einbau dieser Radioisotope in organische oder anorganische

Moleküle. Radiopharmaka sind radioaktive Arzneimittel, die sowohl für diagnostische Fragestellungen als auch für therapeutische Interventionen bei verschiedensten Erkrankungen eingesetzt werden können. Im Allgemeinen weisen sie keine pharmakologischen Effekte auf, da sie nur in sehr geringen Mengen (nanomolarer Bereich) verwendet werden. Als Injektionslösung (= Parenteralia) unterliegen sie einer Reihe von biologischen Qualitätskriterien wie Sterilität und Pyrogenfreiheit, aber auch physiko-chemischen Kriterien wie chemische und radiochemische Reinheit und Radionuklidreinheit. Gerade die beiden letztgenannten sollten regelmäßig vom Anwender, der letztlich für die Bereitung der Markierungskits verantwortlich ist (Anwender = Hersteller im Sinne des AMG), überprüft werden. Dazu stehen eine Reihe schneller und einfacher Methoden wie die Dünnschichtchromatographie oder Kartuschenmethoden zur Verfügung. Mit diesen Verfahren lässt sich ein einfaches und effizientes Qualitätssicherungssystem für das nuklearmedizinische Labor etablieren.

Merke: Radiopharmaka wie Tc-Kits sind radioaktive Arzneimittel und unterliegen dem Arzneimittelgesetz (AMG). An ihre Herstellung sind besondere Anforderungen gestellt, die ein etabliertes Qualitätssicherungssystem im nuklearmedizinischen Labor notwendig machen. Dazu sind alle Daten zur Herstellung und Qualitätskontrolle zu dokumentieren.

1. Allgemeines

Für alle Substanzen, die am Menschen angewendet werden, sind strenge Qualitätskontrolluntersuchungen vorgeschrieben. Grundsätzlich sind diese Vorschriften auch auf Radiopharmaka anzuwenden, was jedoch wegen der Kurzlebigkeit dieser Substanzen Schwierigkeiten bereitet. Im Allgemeinen beinhaltet die Qualitätskontrolle einige spezifische Tests und Messungen, welche die Reinheit, Menge, Produktidentität und mikrobiologische Sicherheit des Radiopharmakons garantieren. **Letztlich liegt die Verantwortung bezüglich der Qualitätssicherheit sowohl beim Hersteller der Kits als auch beim Anwender, d.h. dem Personal einer nuklearmedizinischen Abteilung.** Dafür sollte das Personal gut ausgebildet und erfahren im Umgang mit Radiopharmaka sein, damit es diese verantwortungsvolle Tätigkeit angemessen erfüllen kann. Es ist einleuchtend, daß die Verantwortung des Herstellers sich im Wesentlichen auf die von ihm gelieferten Produkte bezieht. Alle weiteren Handlungen, einschließlich Handhabung und Lagerung von Radiopharmaka und die Herstellung von markierten Verbindungen aus Generatoreluaten und Kits liegen in der Verantwortung der nuklearmedizinischen Abteilung.

2. Radiopharmaka

Radiopharmaka werden in drei Gruppen eingeteilt: in gebrauchsfertige radioaktive Arzneimittel, in radioaktive Arzneimittel, die mit Hilfe eines nach dem Arzneimittelrecht zugelassenen Markierungskits vom Anwender selbst hergestellt werden und den sonstigen radioaktiven Arzneimitteln, einschließlich radioaktiv markierter, körpereigener Bestandteile, die vom Anwender selbst hergestellt werden.

2.1 Gebrauchsfertige radioaktive Arzneimittel

Dies sind Fertigpräparate, die in genau der gleichen Form zur Anwendung am Patienten gelangen, wie sie vom Hersteller zubereitet werden. Gebrauchsfertige Präparate können als flüssige Arzneimittel (Parenteralia = Injektionslösungen), feste Arzneimittel (Kapseln) oder gasförmige Arzneimittel (Inhalationsmittel) vorliegen. Die gesamte Verantwortung über die Qualitätskontrolle liegt dabei beim Hersteller. Demzufolge ist in aller Regel keine Überprüfung des Präparates durch den Anwender erforderlich. Zu beachten ist allerdings, daß die radiochemische Reinheit sich mit der Lagerdauer verändern kann. Hier können radiolytische Veränderungen u.U. innerhalb von wenigen Tagen zu merklichen Qualitätsänderungen führen.

2.2 Markierungsbestecke

Anders liegen die Verhältnisse bei den Nuklidgeneratoren und Kitprodukten, denn hier kann der Hersteller das zur Anwendung gelangende Radiopharmakon selbst nicht prüfen, da es ja erst in der Klinik/Praxis zubereitet wird. Für Untersuchungen, bei denen das Eluat von Radionuklidgeneratoren nicht unmittelbar eingesetzt werden kann, werden entsprechende Substanzen mit ^{99m}Tc markiert. Für die Markierung verwendet man Markierungsbestecke, die aufeinander abgestimmte, inaktive Substanzen enthalten und in Verbindung mit dem Generatoreluat zum gewünschten Radiopharmakon umgesetzt werden (Abb.1). Bei der inaktiven Abfüllung der Kits ist der Hersteller dafür verantwortlich, daß die Herstellung gemäß den arzneimittelrechtlichen Anforderungen erfolgt. Diese Prüfungen werden vom Hersteller an Mustergeneratoren und Musterkits vorgenommen. Das eigentliche Arzneimittel entsteht allerdings erst während des Markierungsvorgangs durch den Anwender vor Ort. Beim Umgang mit ^{99m}Tc zur Markierung sollte man sich deshalb bewußt sein, daß es sich hierbei um einen pharmazeutischen Herstellungsprozeß handelt, der je nach Kit mehr oder weniger aufwändig ist (Abb.2). Neben den vielen Kit-spezifischen Verunreinigungen, die auftreten können, sind als die beiden wichtigsten radiochemischen Verunreinigungen in ^{99m}Tc -markierten Radiopharmaka freies Pertechnetat und hydrolysiertes, reduziertes Technetium (Kolloid) zu nennen, welche zu unerwünschter Aktivitätsanreicherung in verschiedenen Organen und erhöhter Untergrundaktivität führen können.

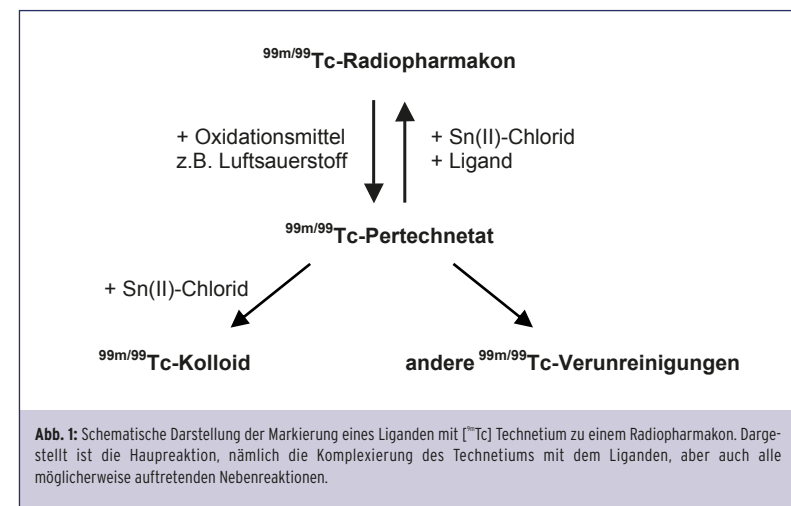
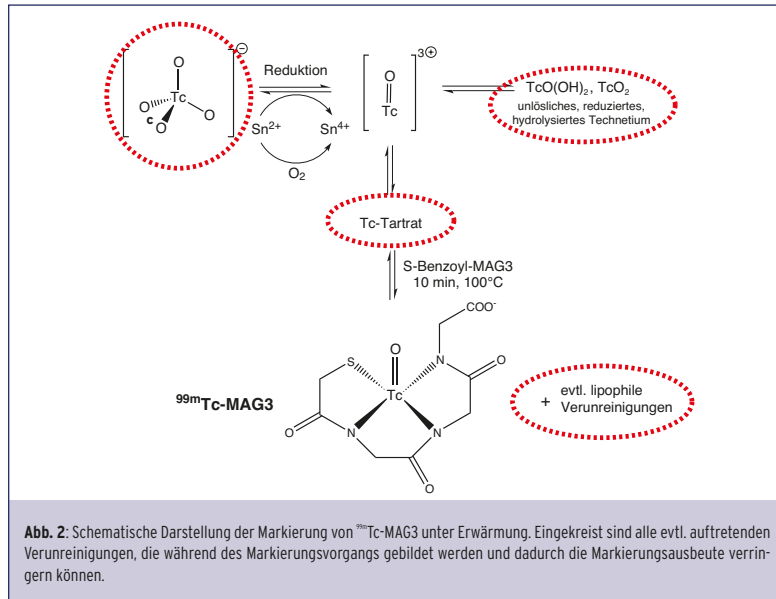


Abb. 1: Schematische Darstellung der Markierung eines Liganden mit ^{99m}Tc Technetium zu einem Radiopharmakon. Dargestellt ist die Hauptreaktion, nämlich die Komplexbildung des Technetiums mit dem Liganden, aber auch alle möglicherweise auftretenden Nebenreaktionen.



2.3 Sonstige radioaktive Arzneimittel

Unter diesen werden alle Radiopharmaka (und radioaktiv markierte, körpereigene Bestandteile) zusammengefaßt, die vom Anwender selbst hergestellt werden, z.B. einige Iod-123-Verbindungen, PET-Radiopharmaka oder aber die Radiotherapeutika, außer Iod-131-Kapseln oder einigen weiteren kommerziell erhältlichen Produkten. Der Anwender ist in diesem Falle für die gesamte Qualitätssicherung, wie Radionuklidreinheit, radiochemische und chemische Reinheit, Sterilität, Pyrogenfreiheit etc. verantwortlich, die er gemäß den Anforderungen des Arzneimittelrechts zu erfüllen hat.

Merke: Radiopharmaka sind Arzneimittel, die wie andere Arzneimittel hohen Qualitätsanforderungen genügen müssen. In der Nuklearmedizin unterscheidet man zwischen 1. gebrauchsfertigen, 2. mit Hilfe eines Markierungskits vom Anwender hergestellten und 3. sonstigen radioaktiven Arzneimitteln, die vom Anwender selbst hergestellt werden. Die Verantwortung des Herstellers bzw. Anwenders für die Qualität des Präparats nimmt dabei in dieser Reihenfolge immer weiter zu.

3. Kriterien der Qualitätskontrolle

Jedes Radiopharmakon, sowohl kommerziell bezogen als auch in Eigenproduktion hergestellt, muß Qualitätskontrollen unterzogen werden. Diese Tests lassen sich in zwei Kategorien einteilen: physikalisch-chemische und biologische Tests. Die physikalisch-chemischen Tests ermitteln den Anteil an radionuklearen, radiochemischen und chemischen Verunreinigungen und es wird der pH-Wert, die Ionenstärke, die Osmolarität (vereinfacht: Salzgehalt) usw. bestimmt, während die biologischen Tests die Sterilität und die Pyrogenfreiheit des Präparats überprüfen. Während die einzelnen Methoden zur Qualitätskontrolle der Radiopharmaka bezüglich Aktivitätsbestimmung, Radionuklidreinheit, chemischer Reinheit und mikrobiologischer Reinheit für verschiedene Radioisotope und entsprechende Radiopharmaka praktisch identisch sind, existieren im Gegensatz dazu zum Nachweis von radiochemischen Verunreinigungen eine große Zahl analytischer Methoden.

3.1 Bestimmung der Radioaktivität im Aktivimeter

Der Anwender ist verantwortlich für die Aktivitätsmenge, die dem Patienten verabreicht wird. Da die Radioaktivitätsmenge und die diagnostische Notwendigkeit die Strahlenexposition des Patienten bestimmen, muß ein genaues, zuverlässiges und kalibriertes Gerät benutzt werden. Neue Geräte sind vom Hersteller für die am meisten verwendeten Isotope geeicht. Isotopenkalibratoren bzw. Aktivimeter arbeiten nach dem Prinzip der Gasionisationskammer und sind einfach in ihrer Handhabung, jedoch müssen vom Benutzer einige regelmäßige Tests wie Linearität, Untergrundstrahlung, Nulleffekt usw. durchgeführt werden.

3.2 Radionuklidreinheit

3.2.1 Definition und Allgemeines

Die Radionuklidreinheit ist das, in Prozent ausgedrückte, Verhältnis der Aktivität des betreffenden Radionuklids zu der gesamten Aktivität der Strahlenquelle. Für die Prüfung der Radionuklidreinheit verwendet man die physikalischen Daten der betreffenden radioaktiven Nuklide und erfaßt Verunreinigungen mit Fremdnukliden (radioaktive Isotope des gleichen Elements sowie radioaktive Fremdisotope anderer Elemente), die meist zu einer Erhöhung der Strahlenexposition des Patienten führen. Radionukleare Verunreinigungen werden in systemabhängige (Nebenreaktionen im Reaktor oder Zyklotron) und nicht-sy-

stemabhängige (Durchbruch des Mutternuklids in einem Generatorsystem, z.B. ^{99}Mo im Eluat des Tochternuklids $^{99\text{m}}\text{Tc}$) unterteilt. Zum Nachweis von Gammastrahlen-emittierenden Verunreinigungen eignet sich die Gammaskpektrometrie. Die Entscheidung, ob und bis zu welchem Gehalt Radionuklidverunreinigungen in den Präparaten vorliegen dürfen, hängt von der Art der jeweiligen Verunreinigung und dem Verwendungszweck des Präparates ab. Der Anwender wird häufig weder zeitlich noch apparativ in der Lage sein, geringe Mengen einer ihm unbekannten, radionuklearen Verunreinigung aufzuspüren. Bei Fertigpräparaten ist sie im Allgemeinen von geringerer Bedeutung, da das Präparat in genau der gleichen Form zur Anwendung gelangt, wie es auch vom Hersteller geprüft wurde.

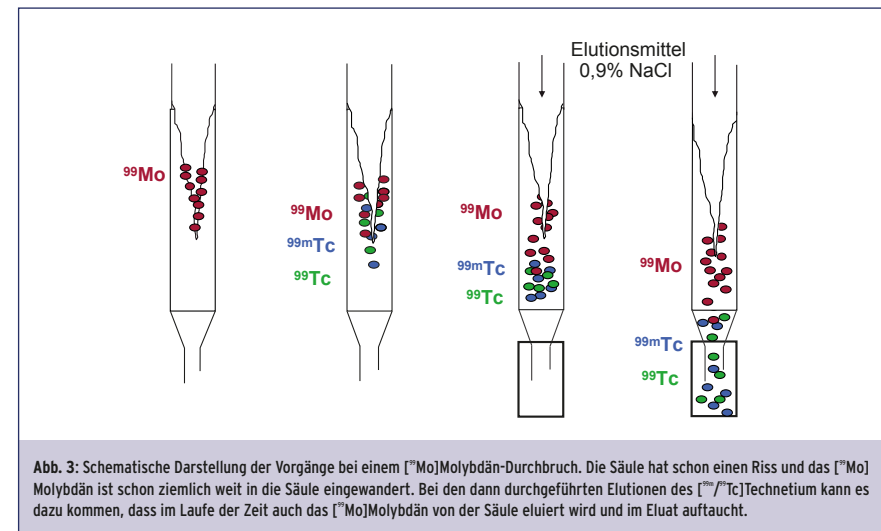
3.2.2 ^{99}Mo -Durchbruch

Anders liegen die Verhältnisse bei den Nuklidgeneratoren, denn hier kann der Hersteller das zur Anwendung am Patienten gelangende Radiopharmakon selbst nicht prüfen, weil es ja erst in der Klinik zubereitet wird. Dem Anwender ist aber die Möglichkeit gegeben, mit einfachen Mitteln eine rasche Untersuchung von $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Eluaten auf ^{99}Mo -Verunreinigungen durchzuführen. Unter ^{99}Mo -Durchbruch versteht man einen Übertritt von ^{99}Mo in das $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Eluat. Er kann auftreten bei einem neu in Betrieb genommenen Generator, durch Beschädigungen während des Transports oder bei Verwendung des Generators über das Verfalldatum hinaus (Abb.3). Daher ist bei neu angelieferten Generatoren vor Verwendung des ersten Eluats eine entsprechende Prüfung vorzunehmen. Das Eluat darf am Menschen nur angewendet werden, wenn zum Zeitpunkt der Anwendung die ^{99}Mo -Aktivität 0,1% der im Gesamteluat vorhandenen Radioaktivität nicht übersteigt. Zur Überprüfung ist lediglich ein Isotopenkalibrator und ein Bleibehälter von 4-6 mm Wandstärke notwendig (s. DIN 6854: Technetium-Generatoren – Anforderungen und Betrieb). Die Halbwertsdicke von Blei beträgt für $^{99\text{m}}\text{Tc}$ ca. 0,3mm und für ^{99}Mo etwa 7mm. Durch ein Bleigefäß von 5mm Wandstärke wird also die Technetiumstrahlung praktisch vollkommen abgeschirmt. Im Gegensatz dazu beträgt der Schwächungsfaktor für die ^{99}Mo -Strahlung nur etwa 1,6. Mißt man also ein Generatoreluat in einem verschlossenen Bleibehälter mit einer Wanddicke von 5mm und ermittelt noch eine deutlich über dem Nulleffekt liegende

Aktivität, so kann der Anteil der ^{99}Mo -Aktivität an der Gesamtaktivität (Aktivität des Eluats in der Messung ohne Blei-Abschirmung) nach folgender Formel ermittelt werden:

$$\frac{\text{Meßwert in [MBq] des abgeschirmten Eluats}}{\text{Meßwert in [MBq] des unabgeschirmten Eluats}} \leq 0,04\%$$

Diese Formel gilt aber nur für Messungen in einer Meßkammer mit $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Einstellung.

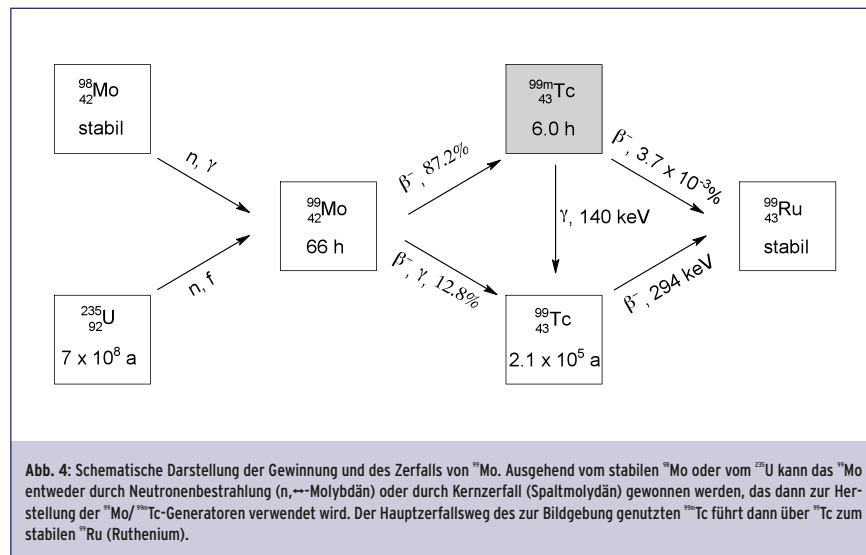


3.2.3 ^{99}Tc Gehalt

Von besonderer Bedeutung für die Verwendung eines $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Eluats ist der jeweilige Gehalt an ^{99}Tc . Es entsteht zu einem geringen Anteil direkt als Zerfallsprodukt aus dem ^{99}Mo , zum anderen ist es das Zerfallsprodukt des $^{99\text{m}}\text{Tc}$ (Abb.4). Dies führt dazu, daß selbst bei einem frischen Eluat, also einem Eluat, das aus einem regelmäßig eluierten Generator (in der Regel alle 24 h) gewonnen wird, der Anteil an ^{99}Tc höher ist als die Teilchenzahl an $^{99\text{m}}\text{Tc}$. Dieses ^{99}Tc konkurriert mit dem $^{99\text{m}}\text{Tc}$ um das zur Verfügungstehende Reduktionsmittel

(in den meisten Fällen Sn^{2+} - Verbindungen) und um die entsprechenden Bindungen an den Komplexbildnern. Je älter so ein Eluat ist, desto höher wird der Anteil des ^{99}Tc im Eluat. Natürlich ist auch nach längeren Elutionspausen, z.B. nach dem Wochenende, der Anteil des ^{99}Tc in den Eluatenspausen entsprechend höher. Dies gilt es zu berücksichtigen, wenn z.B. Kits mit einem geringen Zinngehalt markiert werden sollen.

Merke: Radiopharmaka müssen einer ganzen Reihe von physikalisch-chemischen und biologischen Qualitätskriterien entsprechen. Im Sinne des Strahlenschutzes sind dabei insbesondere die exakte Radioaktivitätsbestimmung und die Radionuklidreinheit (^{99}Mo -Durchbruch, Anteil an ^{99}Tc im Eluat) zu beachten.



3.3 Radiochemische Reinheit

3.3.1 Definition und Allgemeines

Die radiochemische Reinheit liefert eine Aussage über den prozentualen Anteil der Radioaktivität der deklarierten chemischen Verbindung an der Gesamtradioaktivität des Arzneimittels sowie über Art und prozentualen Anteil der radiochemischen Verunreinigungen. Ursachen für solche Verunreinigungen in den Präparaten können u.a. die mangelnde chemische Reinheit der inaktiven Ausgangsprodukte, eine ungenügende Ausbeute bei der Markierung durch zu hohe Radioaktivitätsmengen beim Ansatz, zu alte Eluate oder durch das Einbringen von Luftsauerstoff, die chemische Instabilität einer Verbindung und die Autoradiolyse sein. Sind in einem Radiopharmakon radiochemische Verunreinigungen enthalten, so führen sie zu einer unnötigen Strahlenexposition des Patienten und stören durch eine Erhöhung der Untergrundstrahlung aus anderen Körperbereichen die Messung am zu untersuchenden Organ.

3.3.2 Stabilität von Radiopharmaka

Allgemein kommt es durch Verunreinigungen zu abweichenden Verteilungen im Körper und damit zu falschen Interpretationen und Resultaten bei der Szintigraphie. Fast alle Radiopharmaka zeigen im Laufe weniger Tage Zersetzungserscheinungen durch Radiolyse. Zersetzungsprozesse von Arzneimitteln, wie Hydrolyse und Oxidation, sind häufig vorkommende Erscheinungen, welche durch den pH-Wert, Komplexbildung und auch durch Zugabe von Stabilisatoren eingeschränkt werden können. Bei der Stabilitätsbeurteilung von Radiopharmaka muß man zusätzlich auch die Effekte durch die ionisierende Strahlung des Präparates in Betracht ziehen. Die chemische und radiochemische Reinheit der mit radioaktiven Nukliden markierten Präparate nimmt sowohl in fester als auch in gelöster Form mit der Zeit ab. Weiterhin beeinträchtigen chemische und mikrobiologische Effekte die Stabilität eines Radiopharmakons. Der Einfluß auf die In-vitro-Stabilität durch Autoradiolyse läßt sich durch Zugabe von Reduktionsmitteln oder Radikalfängern, Aufbewahrung bei niedrigen Temperaturen oder durch Verdünnung des Präparates vermindern. Die mikrobiologische Zersetzung kann durch sachgemäße Handhabung der pyrogenfreien Lösungen nahezu ausgeschlossen werden, während die chemische Zersetzung durch geeignete Maßnahmen wie sachgemäße Lagerung im Kühlschrank oder unter Lichtausschluß weitestgehend verhindert werden kann.

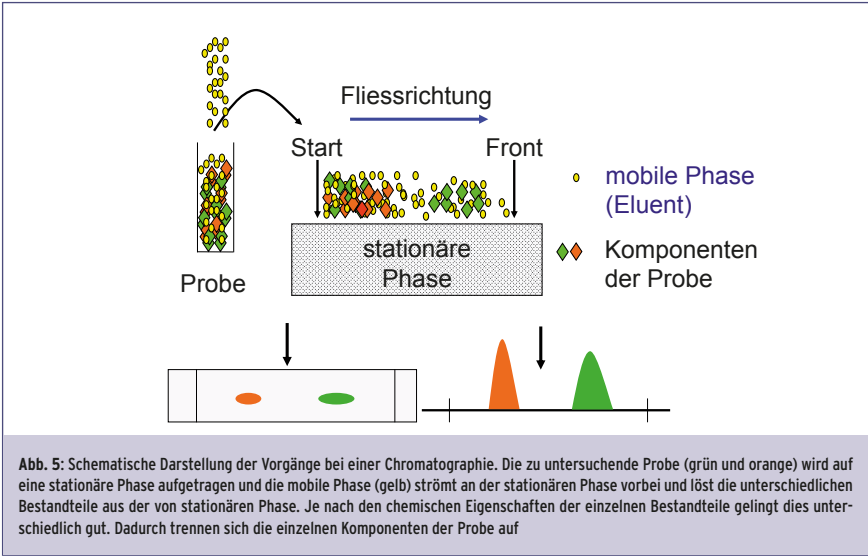
Merke: In radioaktiven Präparaten können neben dem gewünschten radioaktiven Arzneimittel auch andere radioaktive Bestandteile enthalten sein. Deren Auftreten kann durch eine ungenügende Markierungsausbeute, durch eine geringe Stabilität des Präparates oder durch Radiolyse verursacht sein. Wichtig ist, den Anteil dieser radiochemischen Verunreinigungen gering zu halten.

3.3.3 Trennmethoden

Um den Anteil an dem radioaktiven Arzneimittel und den Anteil an weiteren radioaktiven Bestandteilen (= radiochemische Verunreinigungen) zu bestimmen, braucht man Methoden, die es erlauben, die einzelnen Komponenten einer Probe von einander zu trennen. Die Bestimmung der radiochemischen Reinheit gliedert sich also in: a) die Trennung des Radiopharmakons von seinen Verunreinigungen, b) die Messung der Aktivitäten der getrennten Komponenten. Für die Bestimmung der radiochemischen Reinheit stehen heute die Papier-, die Dünnschicht- oder die Hochdruckflüssigkeits-Chromatographie (HPLC), sowie die Elektrophorese zur Verfügung. In der Praxis sind vor allem die Papier- (PC) und die Dünnschichtchromatographie (DC) verbreitet. Besonders die dünnschichtchromatographischen Verfahren zeichnen sich durch eine große Trennkapazität aus und sind für die mikroanalytische Methode der radiochemischen Qualitätskontrolle sehr gut geeignet. Die Technik ist einfach zu handhaben und die Trennung erfordert in den meisten Fällen keinen allzu großen Zeitaufwand. Grundprinzip aller chromatographischen Verfahren ist die Auftrennung von Stoffgemischen in die Einzelkomponenten durch eine unterschiedliche Verteilung der Komponenten zwischen zwei Phasen, die miteinander in Kontakt stehen. So ist z.B. eine von den beiden Phasen auf einem festen Träger (stationäre Phase) angeordnet und die andere wird kontinuierlich an der ersten vorbeibewegt (mobile Phase). Dabei können sich die Stoffkomponenten vielfach zwischen den beiden Phasen verteilen und werden aufgrund der unterschiedlichen Wechselwirkungen aufgetrennt (Abb. 5). Als eine weitere Methode hat sich in den letzten Jahren die Kartuschenmethode etabliert, die auf der Verwendung kleiner Säulen (1-2 cm Länge) beruht, die mit einem entsprechenden Trägermaterial (stationäre Phase) gefüllt sind. Diese müssen vor Gebrauch konditioniert werden, d.h. sie werden in einem ersten Schritt mit einem organischen Lösungsmittel, meistens Ethanol, vorgespült und dann in einem zweiten Schritt mit einer wäßrigen Phase nachge-

spült. Danach wird die zu untersuchende Probe aufgebracht und die einzelnen Komponenten können mit verschiedenen Eluenten (mobile Phase) nacheinander von der Kartusche eluiert und getrennt gesammelt werden. Der Vorteil der Kartuschenmethode liegt vor allem darin, daß sie einfach in der Handhabung und sehr schnell in der Durchführung ist. In Abb.6 sind z.B. die Vorteile der Kartuschenmethode für die Qualitätskontrolle des Se-stamibi im Vergleich zu anderen Verfahren aufgezeigt.

3.3.4 Meßsysteme zur Auswertung



	DC*	Kartusche*	HPLC/PC*
Einfache Handhabung	+	+++	+
Zeitaufwand	20 min	5 min	25 min
Genauigkeit der Testergebnisse	+++	+++	+++
Fehleranfälligkeit	erhöht	gering	gering
Analysenkosten	gering	gering**	hoch
	**bei mehrmaliger Verwendung der Kartusche (bis 20mal)		

Abb.6: Gegenüberstellung der verschiedenen Methoden zur Qualitätskontrolle von ^{99m}Tc-MIBI. Vergleich der Kartuschen-Methode mit der Dünnschichtchromatographie als Standard und der HPLC (Hochdruckflüssigkeitschromatographie) als Referenzmethode nach den Vorgaben des Europäischen Arzneibuchs. Die Kartusche liefert ebenso gute Testergebnisse wie die DC und die HPLC, doch bei weit geringeren Kosten als die HPLC und in weit kürzerer Zeit als die DC. Zudem ist sie sehr viel schneller und leichter durchzuführen, da weniger fehleranfällig.

*[Bedingungen DC: Bakerflex Aluminiumoxid/Ethanol, Kartusche: SepPak Alumina N light/Ethanol; HPLC: Nucleosil-100 C18 5-µm 250x4,6 mm mit Acetonitril, 0,05M Ammoniumsulfat-Lsg. und Methanol im Verhältnis 20:35:45 als Laufmittel bei einem Fluss von 1,5 ml/min. Das Kolloid muss hierbei separat mit Papierchromatographie (PC) bestimmt werden: Whatman Papier No.1 (2cm x 10cm), Acetonitril/0,05 M Essigsäure/0,9% NaCl 1:1:1.]

Die Auswertung der chromatographisch aufgetrennten Substanzen erfolgt durch quantitative Bestimmung der Radioaktivität. Dabei wird entweder die stationäre Phase mit einem Dünnschichtscanner abgetastet oder das Trägermaterial in schmale Streifen zerschnitten und im Kalibrator bzw. Bohrloch oder Probenwechsler ausgezählt. (Abb. 7) Als schnelle und praktikable Alternative kann sich auch eine Aufnahme mit der Gammakamera anbieten. Im Falle der Kartuschen-Methode werden die einzelnen flüssigen Fraktionen in den Reagenzgläsern und die Kartuschen mit unlöslichen Bestandteilen (z.B. Kolloid) einfach im Aktivimeter ausgemessen.

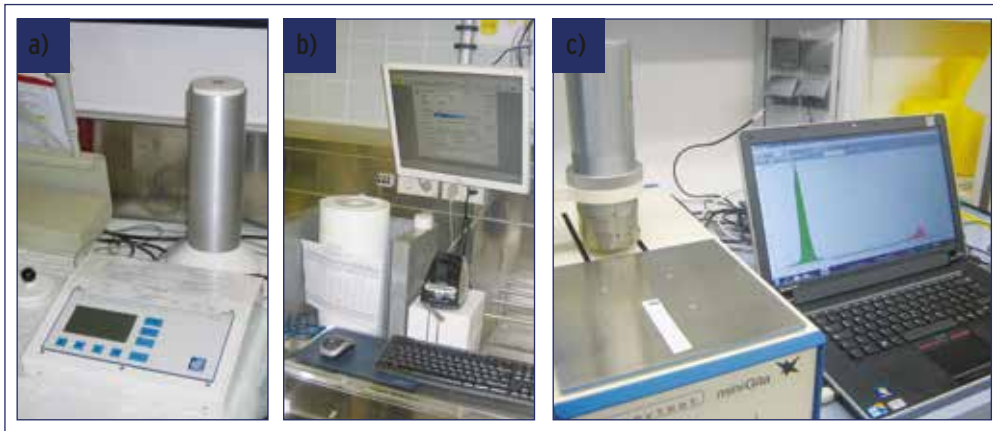


Abb. 7: Verschiedene apparative Möglichkeiten, die Verteilung der Radioaktivität zu bestimmen. a) Aktivimeter oder Ionisationskammer, b) Bohrloch und c) DC-Scanner. Bei den beiden ersteren sind die Streifen zu zerschneiden und die jeweiligen Abschnitte einzeln zu messen, beim Scanner kann der Streifen als Ganzes gemessen werden.

3.4. Chemische Reinheit

Die chemische Reinheit ist das in Prozent ausgedrückte Verhältnis der Masse einer in der deklarierten chemischen Form vorliegenden Substanz zur gesamten in der Strahlenquelle enthaltenen Masse ohne Berücksichtigung irgendwelcher Zusatzstoffe oder Lösungsmittel. Die chemische Reinheit eines Präparates hängt zum einen von der chemischen Reinheit der Ausgangskomponenten, zum anderen von der Bildung unerwünschter Begleitsubstanzen während der Herstellung ab. Die Konzentrationen dieser Verunreinigungen

liegen im Allgemeinen weit unter der Toxizitätsgrenze, es kann jedoch die Bindungsreaktion des Radionuklids mit dem zu markierenden Molekül beeinträchtigt werden. Als Methoden für die Bestimmung der chemischen Verunreinigungen in Radiopharmaka werden verschiedene analytische Verfahren angewendet, die in der klinischen Routine allerdings wegen ihres Zeitaufwandes und den Kosten keine Rolle spielen.

3.5 Pharmazeutische Reinheit

Radiopharmaka müssen den Vorschriften der Pharmacopoe für parenteral zu applizierende Substanzen entsprechen. Das bedeutet, daß die verwendeten Präparate steril und pyrogenfrei sein müssen. In der Herstellungspraxis wird diese Forderung meist so erfüllt, das vom Hersteller garantierte, sterile und pyrogenfreie Ausgangsstoffe verwendet werden und die weitere Verarbeitung weitestgehend unter sterilen Bedingungen erfolgen sollte. Trotzdem müssen die jeweiligen Tests bezüglich der pharmazeutischen Reinheit durchgeführt werden. Ein Problem stellen jene Radiopharmaka dar, die mit kurzlebigen Nukliden markiert sind, da die Ergebnisse der beiden Tests (Sterilitätsprüfung 8-14 Tage, Pyrogentest 1 Tag) nicht abgewartet werden können, bevor das Präparat appliziert wird. Hier ist es deshalb notwendig, den Herstellungsprozess kontinuierlich zu überwachen und dies in genau definierten Arbeitsanweisungen festzulegen.

Merke: Die Bestimmung der radiochemischen Reinheit ist in der Praxis relativ leicht mit mikroanalytischen Methoden wie der Dünnschichtchromatographie oder mit Kartuschen, einer Art Säulenchromatographie, umzusetzen. Zur Auswertung steht das einfache Ausmessen der Radioaktivität im Aktivimeter bzw. im Bohrloch zur Verfügung. Die Bestimmung der chemischen Reinheit ist dagegen weitaus aufwändiger und ist in der Praxis nicht umzusetzen. Dies gilt auch für die biologischen Parameter Sterilität und Pyrogenfreiheit.

4. Was bringt die Qualitätssicherung im Labor?

Die Richtlinie Strahlenschutz fordert die Einführung qualitätssichernder Maßnahmen in allen Bereichen der Anwendung nuklearmedizinischer Verfahren. Gerade im Bereich der Meßtechnik (Aktivimeter, Bohrloch, Kameras) und der Untersuchungen (Protokolle) wird dabei einiges von den Anwendern gefordert. Für den Bereich des Labors sind mit Inkrafttreten der neuen Richtlinie 2011 ebenfalls neue weitergehende Anforderungen an die Qualitätskontrolle formuliert worden (Abb. 8). Prinzipiell kann es bei jedem Markierungsansatz mit ^{99m}Tc zu einem Auftreten radiochemischer Verunreinigungen kommen. Dabei handelt es sich in den meisten Fällen um Pertechnetat und Kolloid. Der Nachweis dieser beiden gelingt sehr einfach mit leicht erlernbaren Methoden. Daher sollte jeder Kit, der in Praxis und Klinik zur Anwendung kommt, in gewissen Abständen regelmäßig kontrolliert werden, um eine gleichbleibende Qualität des Präparats zu garantieren. Im Sinne einer Qualitätssicherung sollte dies in erster Linie zunächst durch die Standardisierung der Präparation im jeweiligen Labor erreicht werden. Bei wechselndem Personal und zur Erleichterung der Einarbeitung von neuem Personal sind dazu allgemein gültige Arbeitsanweisungen zu erarbeiten. Regelmäßig durchzuführende Qualitätskontrollen (ebenfalls nach vorgegebenen Arbeitsanweisungen) dienen dann nur der kontinuierlichen Überprüfung dieser Arbeitsprozesse und als Nachweis gleichbleibender Qualität. Dabei bleibt festzuhalten, daß es nicht darum geht, jede Zubereitung zu überprüfen, sondern einen vernünftigen Ansatz zu finden, gewisse labortechnische Produktionsprozesse auf ihre Effizienz zu überprüfen, genau so, wie es auch für dieameratechnik verlangt wird. Denn es sollte dem Anwender klar sein, daß die Qualität einer Untersuchung auf technischer Seite nicht nur von der „physikalischtechnischen Qualität“ des Untersuchungsgeräts, sondern auch von der (radio-)chemischen Qualität des verwendeten Radiopharmakons abhängt. Wenn man sich die relative Komplexität der Radionuklidgewinnung und der Markierungschemie verdeutlicht, wird man verstehen können, daß es, bei aller Zuverlässigkeit der kommerziellen Produkte, auch im Interesse des Anwenders liegen sollte, ein Augenmerk auf das selbst hergestellte und zur Anwendung gebrachte Produkt zu haben.

Anforderungen der Richtlinie Strahlenschutz in der Medizin vom 1.11.2011	Praktische Bedeutung
1. Radioaktive Arzneimittel, die mit Hilfe ... , hergestellt werden, sind nach den Vorgaben des Herstellers auf Radiochemische Reinheit zu prüfen; ggf. sind die dazu erforderlichen aktuellen Vorgaben vom Hersteller anzufordern.	► alle verwendeten Kits sind zu überprüfen!
2. ... mit Prüfungen in geeigneter Frequenz wird sichergestellt, dass eine ausreichende Markierungsausbeute zuverlässig erreicht wird	► je nach Art und Häufigkeit der Anwendung festzulegen!
3. ...insbesondere dann, wenn neue oder veränderte Markierungskits oder Radionuklidgeneratoren beim Verwender eingeführt werden oder Probleme aufgetreten sind.	► häufigere Prüfungen gefordert bei Veränderungen der Herstellungsbedingungen!
4. die maximale Lagerzeit zwischen Präparation und Applikation am Patienten und längere Standzeiten des Generators müssen hinsichtlich der Auswirkung auf die Markierungsausbeute beurteilt werden können.	► Kontrollen nach Präparation und nach einigen Stunden Standzeit
5. Es sind schriftliche Arbeitsanleitungen für die Markierung und die Qualitätskontrollen der RP vorzuhalten und deren Ergebnisse sind zu dokumentieren.	► umfassende Dokumentation der Labortätigkeit!
6. Qualitätskontrollen von zugelassenen Kit-Radiopharmaka sollten für jede neue angebrochene Kit-Charge und anschließend in geeigneter Frequenz erfolgen.	► je nach Art und Häufigkeit der Anwendung festzulegen
7. Qualitätskontrollen sind unverzüglich durchzuführen, wenn die klinischen Untersuchungsergebnisse ein Qualitätsproblem vermuten lassen.	► Aufdecken von Fehlern und deren Beseitigung im Sinne einer Qualitätssicherung!
8. Im Regelfall soll die vom jeweiligen Hersteller empfohlene Qualitätskontrollmethode verwendet werden. Sofern andere Methoden zur Anwendung kommen, sind diese gegen die vom Hersteller empfohlene Methode zu validieren. Die Unterlagen über diese Gegenvalidierung sind aufzubewahren.	► Sehr schwer in der Praxis umzusetzen! ► Unterstützung durch die Hersteller notwendig

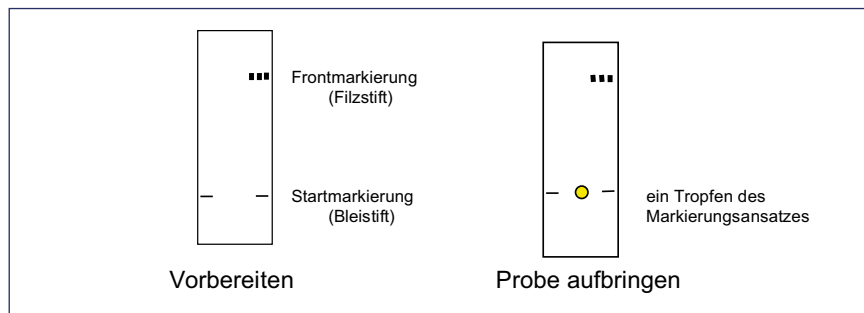
Abb. 8: Aufstellung der in der neuen Richtlinie Strahlenschutz von 2011 formulierten Anforderungen hinsichtlich der Qualitätssicherung bei der Herstellung radioaktiver Arzneimittel und ihre praktische Bedeutung für die tägliche Routine.

Im Folgenden werden die allgemeinen Arbeitsanweisungen zur Durchführung der Qualitätskontrolle radioaktiver Arzneimittel mit der Dünnschichtchromatographie und der Kartuschenmethode vorgestellt.

Standardarbeitsanweisung (SOP) zur Durchführung einer Papier- oder Dünnschichtchromatographie

1. Vorbereitung des Streifens:

DC-Materialien wie ITLC-SG (z.B. von Agilent) oder Papier (z.B. von Whatman) können in kleine Streifen geschnitten werden. Bewährt haben sich 8 x 1 cm (für Diphosphonate, Antikörper, Kolloide etc.) oder 8 x 2 cm große DC-Streifen (für ECD, MIBI, können aber auch mit den Kits bestellt werden). Ungefähr 1,5 cm vom unteren Ende wird mit einem Bleistift an den Rändern eine Markierung angebracht. Diese dient dazu, die Höhe des Auftragspunkts darzustellen. Etwa 0,5 cm vom oberen Rand wird mit einem Filzstift eine zweite Markierung angebracht, z.B. eine Reihe von Punkten. Je nach verwendetem Lösungsmittel wird ein wasserlöslicher oder wasserfester Marker verwendet. Erreicht das Lösungsmittel den markierten Punkt, so beginnt die Farbe mit dem Lösungsmittel mitzuwandern bzw. zu verlaufen. Die Lösungsmittelfront wird nun gut sichtbar, das Ende der Entwicklung ist damit angezeigt und der Streifen kann aus der Chromatographie-Kammer entnommen werden. Wichtig ist, daß die Markierung mit der Probe nicht wechselwirken kann (deshalb Markierung am Rand des Streifens). Die ungefähre Dimension und die Art der Markierung sind in der unteren Abbildung noch einmal schematisch dargestellt.



2. Vorbereitung der mobilen Phase

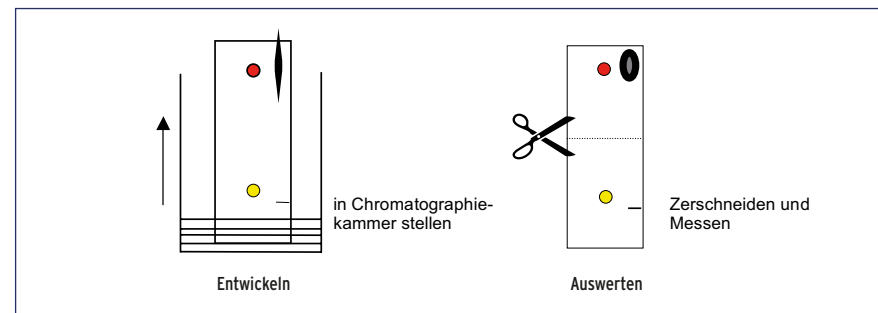
In die Kammer oder in ein sonstiges Gefäß wird soviel Lösungsmittel eingefüllt, dass der Boden ca. 3-5 mm hoch mit Flüssigkeit bedeckt ist. Wird ein organisches, nichtwässriges Lösungsmittel verwendet, so ist darauf zu achten, daß eine gesättigte Atmosphäre im Inneren herrscht, d.h. den Behälter mit Folie oder einem Deckel abdecken und nach Einfüllen des Laufmittels kurz schwenken.

3. Aufbringen der Probe

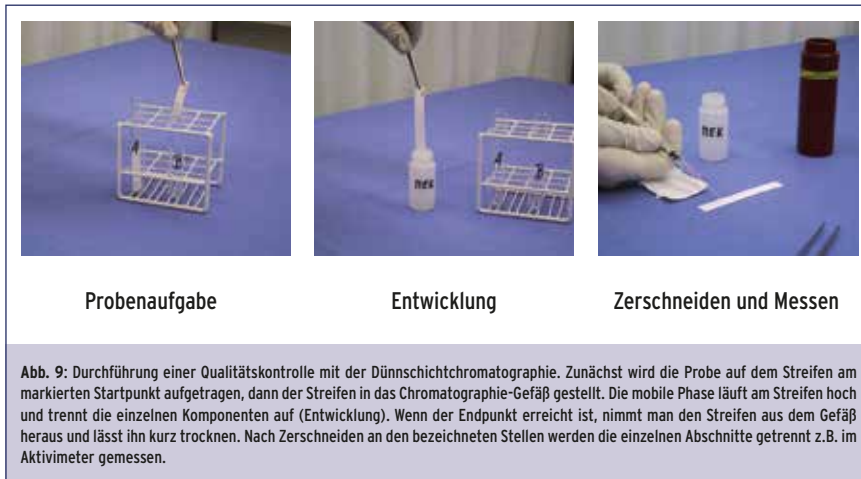
Eine kleine Probe (0,05 - 0,1ml) wird mit einer 1ml-Spritze und einer dünnen Nadel aus dem Durchstechfläschchen entnommen. Vorsichtig wird ein einzelner, möglichst kleiner Tropfen der Probe direkt von der Nadel auf die Platte gebracht. Bei manchen Präparaten muß zuvor die Auftragsstelle mit einem Tropfen Lösungsmittel angefeuchtet werden. Zum Auftragen von kleinen Probenmengen, die im Bohrloch und nicht im Aktivimeter gemessen werden sollen, empfiehlt sich die Verwendung von kleinen Glaskapillaren.

4. Entwicklung des Chromatogramms

Unmittelbar nach dem Aufbringen der Probe wird das Chromatogramm entwickelt. Der aufgebrachte Tropfen darf nicht in allen Fällen trocknen, da evtl. eine Oxidation oder starke Adsorption der Probe eintreten kann. Eine Ausnahme ist, wenn die verwendete mobile Phase mit der wässrigen Probe (physiologische NaCl-Lösung) nicht mischbar ist (z.B. ECD). Die Entwicklungszeit des Chromatogramms ist abhängig von der stationären Phase (ITLC < Papier < konventionelle DC) und liegt zwischen 2 und 30 Minuten. Die Lösungsmittelfront wird durch die Farbstiftmarkierung sichtbar gemacht. Hat das Lösungsmittel das obere Ende des Streifens erreicht, wird der Streifen sofort aus der Kammer genommen und getrocknet.



In der nachstehenden Abbildung sind die einzelnen Schritte nochmals dargestellt. (Abb. 9).



5. Auswertung

a) Scanner:

Die Auswertung am Scanner ist gerätespezifisch und kann aus der Gerätebeschreibung nachvollzogen werden.

Wichtig ist:

- Wissen, wo Front und Start ist (einzeichnen!)
- Streifen nicht in vollständig nassem Zustand messen (vor allem bei organischen Lösungsmitteln, die den Detektor angreifen könnten)
- Regionen möglichst eng über den Peak legen (v.a. bei hoher Hintergrundaktivität)

b) Zerschneiden und Messen in der Ionisationskammer

Die schnellste und einfachste Methode ist die Messung der Streifen in der Ionisationskammer. Der Streifen wird vorher in der Mitte gekennzeichnet. Nach der Entwicklung wird er in der Mitte durchgeschnitten und beide Teile gemessen. Anschließend wird noch ein Hintergrundwert ermittelt.

1. Bsp.: Radiopharmakon am Start, Verunreinigung an der Front (z.B. Nanocoll):

$$\frac{(Start)}{(Start + Front)} \times 100 = \% \text{ Reinheit}$$

2. Bsp.: Radiopharmakon an der Front, Verunreinigung am Start (z.B. ECD):

$$\frac{(Front)}{(Front + Start)} \times 100 = \% \text{ Reinheit}$$

Werden zwei Streifen entwickelt, so ergibt sich die Reinheit aus:

$$\left(1 - \frac{(Front)}{(Start + Front)} - \frac{(Start)}{(Start + Front)}\right) \times 100 = \% \text{ Reinheit}$$

Allgemein und einfacher geht es nach folgender Gleichung:

$$\% \text{ Reinheit} = 100\% - (\% \text{ Verunreinigung System 1} + \% \text{ Verunreinigung 2})$$

Eine genaue Beschreibung der Berechnung wird bei komplizierten Systemen (z.B. HMPAO) im Beipackzettel bzw. in der entsprechenden Arbeitsanleitung angegeben.

6. Bemerkungen zu möglichen Fehlern bei der QC mit DC/PC:

Bei der Präparation und Durchführung einer Qualitätskontrolle gibt es eine Reihe von Fehlermöglichkeiten, die zu falschen Ergebnissen bezüglich der radiochemischen Reinheit führen können.

Fehlerquellen sind z.B.

... bei der Präparation und Probennahme:

1. Die Markierungsreaktion ist noch nicht abgeschlossen, da die Reaktionszeit nicht eingehalten wurde.
2. Bei Arbeiten mit Belüftungskanülen kann Luftsauerstoff in das Markierungsfläschchen gelangen und es kommt dort dann zu einer vorzeitigen Oxidation des Zinns ($\text{Sn}^{2+} \rightarrow \text{Sn}^{4+}$) und das zugesetzte Pertechnetat wird nicht mehr vollständig reduziert.
3. Einige Präparate (MAA, Kolloide, Nanocoll) müssen bei Entnahme der Probe ausreichend durchmischt werden, da die Partikel sedimentieren können. Dadurch werden die auch immer vorhandenen gelösten Verunreinigungen überbestimmt, wenn die Probe im Volumen oberhalb des Sediments entnommen wird.

... bei der Durchführung der Chromatographie:

1. Der Kontakt mit Luftsauerstoff führt zu Oxidation und Reaktionen der Probe auf dem Chromatographiestreifen. Deshalb sollte die aufgetragene Probe nicht auf Streifen eingetrocknen. Ausnahmen gibt es nur in den Fällen, wo die wässrige Probe nicht mit einem organischen Laufmittel mischbar ist.
2. Durch unsauberes Arbeiten kann es zur Kontamination des Chromatographiestreifens kommen. Ursachen dafür können sein:
 - Verspritzen von Aktivität beim Auftragen der Probe,
 - Anfassen des Streifens mit kontaminierten Händen (Handschuhe wechseln !)
 - oder Arbeitswerkzeugen (Pinzette),
 - evtl. im Laufmittel vorhandene Aktivität,
 - „Rückkontamination“ auf einer bereits kontaminierten Unterlage.
3. Der Auftragspunkt der Probe auf dem Chromatographiestreifen taucht in das Laufmittel hinein.

4. Es kommt zu einer Oxidation des Technetiums durch das Laufmittel. So kann es z.B. bei der Verwendung von Methylethylketon vorkommen, daß sich unter Einfluß von Licht Peroxide bilden (Beachten: wie alt ist das verwendete Methylethylketon schon?). Evtl. MEK durch Aceton ersetzen, dass umweltverträglicher und chemisch stabiler ist.
5. Fett von Fingerabdrücken auf dem Chromatogramm.
6. Die Ränder des Chromatographiestreifens berühren die Wand der Trennkammer, wobei die Lösungsmittelfront an den Rändern schneller wandert.
7. Es wurde ein falsches Laufmittel oder ein zu altes Laufmittel verwendet.
8. Das verwendete Laufmittelgemisch wurde nur ungenügend durchmischt.
9. Die Probe wurde nicht gleichmäßig aufgetragen.
10. Die Trennkammer wurde während der Entwicklung bewegt.

Standardarbeitsanweisung (SOP)

zur Durchführung einer QC mit Kartuschen

Bei dieser Methode handelt es sich um eine sog. Festphasen-Extraktion, bei der eine kleine Säule die stationäre Phase enthält und die Probe auf diese Säule aufgegeben wird. Die einzelnen Bestandteile der Probe wechselwirken mit der stationären Phase und werden unterschiedlich stark von ihr "festgehalten". Durch Verwendung verschiedener mobiler Phasen können dann die einzelnen Bestandteile nacheinander von der Säule eluiert werden.

1. Vorbereitung der Kartusche:

Vor Gebrauch muß die Kartusche konditioniert werden, d.h. sie wird mit den entsprechenden Lösungsmitteln gespült. Dabei wird zuerst ein organisches Lösungsmittel (z.B. Ethanol) langsam durch die Kartusche gedrückt, danach spült man mit einer wässrigen Lösung. Nun ist die Kartusche aktiviert und kann verwendet werden.

2. Aufbringen der Probe:

Eine kleine Probe (ca. 0,3 ml) wird mit einer 1ml-Spritze und einer dünnen Nadel aus dem Durchstichfläschchen entnommen. Die Spritze wird dann ohne Nadel auf die Kartusche aufgesteckt und die Probe langsam durch die Säule gedrückt (Säulenvolumen 0,5 ml).

3. Elution:

Die einzelnen Bestandteile der Probe können dann mit verschiedenen Lösungsmitteln von der Säule eluiert werden, wobei der organische Anteil immer weiter steigt; so eluiert man zuerst mit einem wässrigen Lösungsmittel und wechselt dann zu unpolaren Lösungsmitteln, indem man z.B. Ethanol hinzugibt. Jedes Elutionsmittel wird dann getrennt in einem Probenröhrchen gesammelt. In der nachstehenden Abbildung sind die einzelnen Schritte nochmals dargestellt. (Abb. 10).

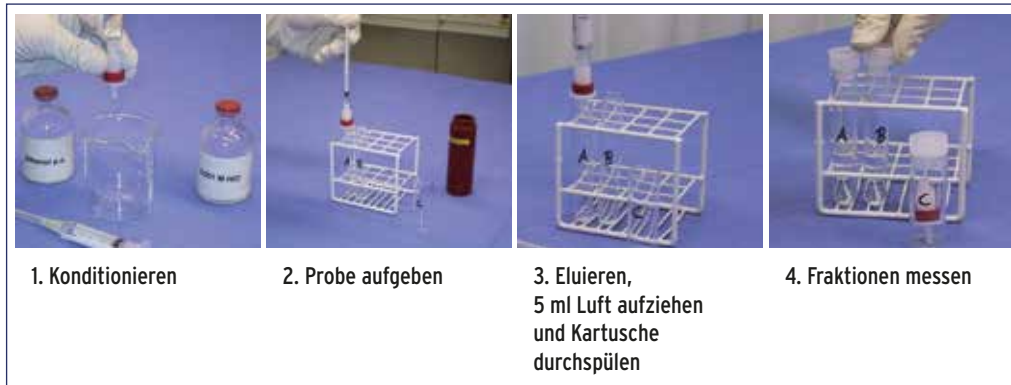


Abb. 10: Durchführung der Qualitätskontrolle mit der Kartusche. Die Kartusche wird zunächst mit einem organischen Lösungsmittel (z.B. Ethanol) und dann mit einer wässrigen Lösung (z.B. NaCl) vorgespült (konditioniert). Danach wird eine kleine Probe aufgegeben und dann die einzelnen Komponenten mit verschiedenen Lösungen einzeln von der Kartusche heruntergespült (eluiert). Die einzelnen Fraktionen können dann getrennt ausgemessen werden.

4. Auswertung

Messen in der Ionisationskammer

Die Auswertung erfolgt durch Messung der einzelnen Probenröhrchen in der Ionisationskammer. Die Aktivitäten der einzelnen Eluate und die Restaktivität auf der Kartusche werden notiert und damit die radiochemische Reinheit ermittelt.

Bsp.: Radiopharmakon in Röhrchen B, Verunreinigungen in Röhrchen A und in Kartusche (z.B. MAG3):

$$\frac{\text{Röhrchen B}}{\text{Röhrchen A} + \text{Röhrchen B} + \text{Kartusche}} \times 100 = \% \text{ Reinheit}$$

allgemein:

$$\frac{\text{Röhrchen mit Produkt}}{\text{Röhrchen mit Produkt} + \text{Röhrchen 1} + \text{Röhrchen 2} + \dots + \text{Kartusche}} \times 100 = \% \text{ Reinheit}$$

Auf den nächsten Seiten sind alle Methoden der Qualitätskontrolle für die verschiedenen Radiopharmaka aufgelistet.

Methoden für die Qualitätskontrolle - Übersicht						
Präparation	Methode	Reagenzien (Lösungsmittel/ Streifen)	Verteilung		Limit [%]	Bemerkungen
			Radiopharmakon	Verunreinigung		
¹¹¹ In-MAK	DC 1	0,1 M Natriumcitrat-Lsg. pH 5 / ITLC-SG	Start	Front (¹¹¹ InCl ₃)	95	frische Citrat-Lösung verwenden
¹¹¹ In-Octreo-scan	DC 2	0,1 M Natriumcitrat-Lsg. pH 5 / ITLC-SG	Start	Front (¹¹¹ InCl ₃)	98	frische Citrat-Lösung verwenden
¹¹¹ In-Octreo-scan	Kartusche 3	Sep-Pak C18 light / 1) 0,9% NaCl 2) Ethanol	Eluat 2	Eluat 1 (¹¹¹ InCl ₃), Säule (¹¹¹ In-Kolloid)	96	
^{99m} Tc-(V)-DMSA	DC 4	n-Butanol/Essigsäure/Wasser 3:2:3 / Kieselgel 60	R _f = 0,5	Start: ^{99m} Tc-Kolloid Front: ^{99m} TcO ₄	80	Unterscheidung zwischen ^{99m} Tc-(V)- und ^{99m} Tc-(IV)-DMSA schwierig
^{99m} Tc-DMSA (Niere statisch)	DC 5	Aceton oder Methyl-ethylketon / ITLC-SG	Start	Front: ^{99m} TcO ₄	95	nur freies Pertech-netat bestimmbar
^{99m} Tc-HDP	DC 6	A) Aceton oder MEK / ITLC-SG	Start	Front: ^{99m} TcO ₄	95	nur freies Pertech-netat
		B) 0,9% NaCl oder 0,1 M Na-Acetat / ITLC-SG	Front	Start: ^{99m} Tc-Kolloid		häufig Artefakte!
^{99m} Tc-HDP	DC 7	A) Aceton oder MEK / ITLC-SG	Start	Front: ^{99m} TcO ₄	95	nur freies Pertech-netat (vereinfachte Methode!!)

Methoden für die Qualitätskontrolle - Übersicht

Präparation	Methode	Reagenzien (Lösungsmittel/ Streifen)	Verteilung		Limit [%]	Bemerkungen
			Radiopharmakon	Verunreinigung		
^{99m} Tc-DTPA	DC 8	A) Aceton oder MEK / ITLC-SG B) 80% Methanol / ITLC-SG	Start	Front: ^{99m} TcO ₄ ⁻	95	
			Front	Start: ^{99m} Tc Kolloid		
^{99m} Tc-ECD	DC 9	Ethylacetat/Baker flex Silica gel	Front	Start (^{99m} TcO ₄ ⁻ ^{99m} Tc Kolloid)	90	Probe vor dem Entwickeln trocknen
^{99m} Tc-IDA-Derivate	DC 10	A) Aceton oder MEK / Whatman 3MM (imprägniert mit 0,3 M NaHCO ₃)	Start	Front: ^{99m} TcO ₄ ⁻	95	imprägnieren: Whatman 3MM in 0,3 M NaHCO ₃
		B) 50% Acetonitril / ITLC-SG	Front	Start: ^{99m} Tc Kolloid		legen u. bei 60°C trocknen
^{99m} Tc-Kolloide (Zinn-, Schwefel- kolloid)	DC 11	Aceton oder Methyl- ethylketon / ITLC-SG	Start	Front: ^{99m} TcO ₄ ⁻	95	nur freies Pertech- netat
^{99m} Tc-MAA (Lungenperfusion)	Filter 12	20 ml 0,9% NaCl-Lsg. / Spritzenfilter	Filter	Eluat	95	
^{99m} Tc-MAG3	Kartusche 13	Sep-Pak C18 light / 1) Ethanol 2) 0,001 N HCl (2x) 3) Ethanol / 0,9% NaCl-Lsg. 1:1	Eluat 2	Eluat 1 (^{99m} TcO ₄ ⁻ Säule (^{99m} Tc Kolloid)	96	
^{99m} Tc-MAG3	DC 14	A) Ethylacetat/Methylethylketon 3:2 /ITLC-SG	Start	Front: ^{99m} TcO ₄ ⁻	96	am Start neben ^{99m} Tc- MAG3 auch Kolloid
		B) 50% Acetonitril / ITLC-SG	Front	Start: ^{99m} Tc Kolloid		an der Front neben ^{99m} Tc-MAG3 auch ^{99m} TcO ₄ ⁻
^{99m} Tc-MAK (Anti-CEA, Anti-Granulozyten)	DC 15	Aceton oder Methyl- ethylketon / ITLC-SG	Start	Front: ^{99m} TcO ₄ ⁻ und ^{99m} Tc-PTP	95	Kolloide werden nicht erfasst!
^{99m} Tc-MIBI	DC 16	Ethanol / Baker Flex Aluminiumoxid	Front	Start: ^{99m} TcO ₄ ⁻ und ^{99m} Tc-Kolloid	94	zuerst 1 Tr. Ethanol auftragen, dann 1 Tr. der Probe

Methoden für die Qualitätskontrolle - Übersicht

Präparation	Methode	Reagenzien (Lösungsmittel/ Streifen)	Verteilung		Limit [%]	Bemerkungen
			Radiopharmakon	Verunreinigung		
^{99m} Tc-MIBI	Kartusche 17	Sep-Pak AluminaN plus 1) Ethanol	Eluat 1	Eluat 1 (^{99m} Tc- MIBI) Säule (^{99m} TcO ₄ ⁻ und ^{99m} Tc-Kolloid)	94	^{99m} Tc-Kolloid/ ^{99m} TcO ₄ ⁻ werden gleichzeitig erfasst
^{99m} Tc-Nanocoll	DC 18	Aceton oder Methyl- ethylketon / ITLC-SG	Start	Front: ^{99m} TcO ₄ ⁻	95	^{99m} Tc-Kolloide kön- nen nicht erfasst werden
^{99m} Tc- Tetrofosmin	DC 19	Aceton 35: Dichlor- methan 65 / ITLC-SG	Mitte	Front: ^{99m} TcO ₄ ⁻ Start: ^{99m} Tc- Kolloid	95	^{99m} Tc-Kolloid/ ^{99m} TcO ₄ ⁻ werden gleichzeitig erfasst
^{99m} Tc- Tetrofosmin	Kartusche 20	Sep-Pak AluminaN plus 1) Ethanol	Eluat 1	Eluat 1 (^{99m} Tc- Tetrofosmin) Säule (^{99m} TcO ₄ ⁻ und ^{99m} Tc- Kolloid)	95	^{99m} Tc-Kolloid/ ^{99m} TcO ₄ ⁻ werden gleichzeitig erfasst
^{99m} Tc-UltraTAG RBC	Zentrifu- gation 21	0,9% NaCl-Lösung	RBC	Überstand	>95	
^{99m} Tc-HMPAO	DC 22	A) Aceton oder Methylethylketon / ITLC-SG	Front (und ^{99m} TcO ₄ ⁻)	Start: sek. ^{99m} Tc-HMPAO und ^{99m} Tc- Kolloid	80	an der Front neben dem primären HMPAO als Produkt auch Pertech-netat
		B) 0,9% NaCl / ITLC-SG	Start und sek. ^{99m} Tc-HMPAO und ^{99m} Tc- Kolloid	Front: ^{99m} TcO ₄ ⁻		am Start neben dem primären HMPAO als Produkt auch sekundäres HMPAO und Kolloid

Die nachfolgenden Seiten enthalten die ausführlichen Beschreibungen (SOP's) zu den einzelnen Radiopharmaka.

Arbeitsanleitung 1

Qualitätskontrolle von ¹¹¹In-markierten Antikörpern nach der 1-Streifenmethode

benötigte Materialien:

- 1 x Streifen ITLC-SG (1x 8 cm)
- 1 x Chromatographie-Kammer
- 2 x Probenröhrchen (jeweils beschriftet mit Unten und Oben)
- 1 x 1ml-Spritze mit kleiner Kanüle

benötigtes Lösungsmittel:

- 0,1M Natriumcitrat-Lösung mit 1 N Salzsäure auf pH = 5 eingestellt (Apotheke!)

Durchführung:

ITLC-SG - 0,1M Natriumcitrat pH = 5

- Laufmittel in eine Kammer füllen und vorsichtig schwenken.
- Start- und Endpunkt auf der Platte markieren.
- Einen Tropfen der ¹¹¹In-Antikörper-Probe aufbringen und Platte in die Kammer stellen und warten, bis die Front erreicht ist.
- Platte aus der Kammer herausnehmen und an der Luft trocknen lassen.
- Platte in der Mitte zerschneiden und die beiden Teile in die Probenröhrchen geben und im Aktivimeter messen.

Unterer Teil: ¹¹¹In-Antikörper und unlösliche ¹¹¹In-Verbdg

Oberer Teil: freies Indiumchlorid (¹¹¹InCl₃)

Berechnung der radiochemischen Reinheit nach folgender Formel:

$$\frac{\text{Unterer Teil}}{\text{Unterer Teil} + \text{Oberer Teil}} \times 100 = \text{Anteil in \% des } ^{111}\text{In-Octreoscan}$$

Radiochemische Reinheit (RR): mind. 98% ¹¹¹In-Octreoscan
(+ unlösl. ¹¹¹In-Verbindungen!)

- Auswertung protokollieren (Name, Datum, Ergebnisse)

Beachte: Die Methode ist relativ unproblematisch, wichtig ist nur, darauf zu achten, dass eine relativ frische Citratlösung verwendet wird (ca. 1 Jahr haltbar). Nur freies ¹¹¹Indiumchlorid wird detektiert, unlösliche ¹¹¹Indiumchlorid-Verbindungen können nicht vom Radiopharmakon separiert werden. Bei der Messung in der Ionisationskammer ist man bei der verwendeten Radioaktivitätskonzentration an der Grenze der Nachweisempfindlichkeit.

Arbeitsanleitung 2

Qualitätskontrolle von ¹¹¹In-Octreoscan nach der 1-Streifenmethode

benötigte Materialien:

- 1 x Streifen ITLC-SG (1x 8 cm)
- 1 x Chromatographie-Kammer
- 2 x Probenröhrchen (jeweils beschriftet mit Unten und Oben)
- 1 x 1ml-Spritze mit kleiner Kanüle

benötigtes Lösungsmittel:

- 0,1M Natriumcitrat-Lösung mit 1 N Salzsäure auf pH = 5 eingestellt (Apotheke!)

Durchführung:

ITLC-SG - 0,1M Natriumcitrat pH = 5

- Laufmittel in eine Kammer füllen und vorsichtig schwenken.
- Start- und Endpunkt auf der Platte markieren.
- Einen Tropfen der ¹¹¹In-Octreoscan-Probe aufbringen und Platte in die Kammer stellen und warten, bis die Front erreicht ist.
- Platte aus der Kammer herausnehmen und an der Luft trocknen lassen.
- Platte in der Mitte zerschneiden und die beiden Teile in die Probenröhrchen geben und im Aktivimeter messen.

Unterer Teil: ¹¹¹In-Octreoscan und unlösliche ¹¹¹In-Verbindung

Oberer Teil: freies Indiumchlorid (¹¹¹InCl₃)

Berechnung der radiochemischen Reinheit nach folgender Formel:

$$\frac{\text{Unterer Teil}}{\text{Unterer Teil} + \text{Oberer Teil}} \times 100 = \text{Anteil in \% des } ^{111}\text{In-Octreoscan}$$

Radiochemische Reinheit (RR): mind. 98% ¹¹¹In-Octreoscan (+ unlösl. ¹¹¹In-Verbindungen!)

- Auswertung protokollieren (Name, Datum, Ergebnisse)

Beachte: Die Methode ist relativ unproblematisch, wichtig ist nur, darauf zu achten, dass eine relativ frische Citratlösung verwendet wird (ca. 1 Jahr haltbar). Nur freies ¹¹¹Indiumchlorid wird detektiert, unlösliche ¹¹¹Indiumchlorid-Verbindungen können nicht vom Radiopharmakon separiert werden. Bei der Messung in der Ionisationskammer ist man bei der verwendeten Radioaktivitätskonzentration an der Grenze der Nachweisempfindlichkeit.

Arbeitsanleitung 3

Qualitätskontrolle von ¹¹¹In-Octreoscan nach der Kartuschen-Methode (SepPak)

benötigte Materialien:

- 4 x 5ml-Spritzen (s.u.)
- 1 x 1ml-Spritze
- 1 x Kartusche SepPak C18 Light
- 2 x 10ml-Probenröhrchen (beschriftet mit A und B)
- 1 x Probengefäß für die Kartusche (beschriftet mit C)

benötigte Lösungen:

- 1 x 5ml-Spritze mit 5 ml Ethanol (mind. 96% nach DAB oder Ethanol absolut);
- 1 x 5ml-Spritze mit 5 ml Wasser zur Injektion;
- 1 x 5ml-Spritze mit 5 ml 0,9% isot. Kochsalz-Lösung
- 1 x 5 ml-Spritze mit 3 ml Ethanol vorbereiten
- vom ¹¹¹In-Octreoscan-Ansatz 0,05 – 0,1 ml in der 1ml-Spritze aufziehen

Durchführung:

- Kartusche mit 5 ml Ethanol vorspülen (langsam Tropfen für Tropfen das Lösungsmittel durchdrücken)
- Kartusche ebenfalls mit 5 ml Wasser zur Injektion vorspülen, Kartusche nicht trockenlaufen lassen!
- jetzt ¹¹¹In-Octreoscan-Probe auf Kartusche aufbringen
- Kartusche mit 5 ml 0,9% isot. Kochsalz-Lösung eluieren und in Probenröhrchen A sammeln: Anteil an ungebundenem ¹¹¹Indium (¹¹¹InCl₃ u.a.): Fraktion A
- Kartusche mit 3 ml Ethanol eluieren und in B sammeln
Anteil an ¹¹¹In-Octreoscan: Fraktion B
- danach 2-3 x 5 ml Luft in der Ethanol-Spritze aufziehen und die Kartusche mit Luft durchspülen, um die gesamte Flüssigkeit aus der Kartusche zu drücken
- auf der Kartusche verbleiben noch unlösliche ¹¹¹In-Verbindungen: Fraktion C
- alle drei Fraktionen A, B und C im Aktivimeter messen

Berechnung der radiochemischen Reinheit nach folgender Formel:

$$\frac{\text{Fraktion B}}{\text{Fraktion A} + \text{Fraktion B} + \text{Fraktion C}} \times 100 = \text{Anteil in \% des } ^{111}\text{In-Octreoscan}$$

Radiochemische Reinheit (RR): mind. 96 % ¹¹¹In-Octreoscan

- Auswertung protokollieren (Name, Datum, Ergebnisse)

Beachte: Besonders wichtig bei dieser Methode ist es, darauf zu achten, dass die Säule nicht zu schnell und möglichst gleichmäßig eluiert wird, da es sonst zu Artefakten kommen kann. Mögliche Verunreinigungen sind freies ¹¹¹In-Chlorid, ¹¹¹In-Kolloid, ¹¹¹In-DTPA und lipophile Verunreinigungen. Die radiochemische Reinheit sollte mindestens 96% betragen.

Arbeitsanleitung 4

Qualitätskontrolle von $^{99m}\text{Tc}(\text{V})\text{-DMSA}$

benötigte Materialien:

- 1 x DC mit Kieselgel 60 (ca. 2 x 8 cm)
- 1 x Chromatographie-Kammer
- 3 x Probenröhrchen (jeweils beschriftet mit Unten, Mitte und Oben)
- 1 x 1ml-Spritze mit kleiner Kanüle

benötigte Lösungsmittel:

- n-Butanol/Essigsäure/Wasser 3:2:3

Durchführung:

Kieselgel 60 - n-Butanol/Essigsäure/Wasser 3:2:3

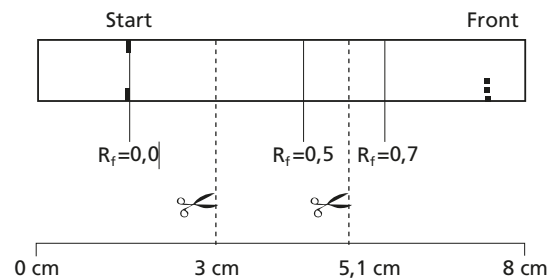
- Laufmittel in eine Kammer füllen und vorsichtig schwenken.
- Start- und Endpunkt auf der Platte markieren.
- Einen Tropfen der $^{99m}\text{Tc}(\text{V})\text{-DMSA}$ -Probe aufbringen und Platte in die Kammer stellen und warten, bis die Front erreicht ist.
- Platte aus der Kammer herausnehmen und an der Luft trocknen lassen.

Unterer Teil: ^{99m}Tc -Kolloid $R_f = 0,0$

Mittlerer Teil: $^{99m}\text{Tc}(\text{V})\text{-DMSA}$ $R_f = 0,5$

Oberer Teil: freies Pertechnetat ($^{99m}\text{TcO}_4^-$) $R_f = 0,7$

Der Chromatographie-Streifen muss dazu wie folgt geschnitten werden:



Berechnung der radiochemischen Reinheit nach folgender Formel:

$$\frac{\text{Fraktion B}}{\text{Fraktion A} + \text{Fraktion B} + \text{Fraktion C}} \times 100 = \text{Anteil in \% des } ^{99m}\text{Tc}(\text{V})\text{-DMSA}$$

Radiochemische Reinheit (RR): mind. 80% $^{99m}\text{Tc}(\text{V})\text{-DMSA}$

- Auswertung protokollieren (Name, Datum, Ergebnisse)

Beachte: Die Methode ist problematisch, da nicht genau zwischen $^{99m}\text{Tc}(\text{V})\text{-DMSA}$ und $^{99m}\text{Tc}(\text{IV})\text{-DMSA}$ unterschieden werden kann. Die Auswertung lässt sich auch nur mit einem DC-Scanner oder Linear Analyzer genau durchführen. **Schwierige Methode: Meist reicht es, auf freies Pertechnetat zu prüfen, wie bei DMSA (s. Arbeitsanleitung 5)**

Arbeitsanleitung 5

Alternativ: Qualitätskontrolle von ^{99m}Tc -DMSA nach der 1-Streifenmethode

benötigte Materialien:

- 1 x 1 Streifen ITLC-SG (1 x 8 cm)
- 1 x Chromatographie-Kammer
- 2 x Probenröhrchen (jeweils beschriftet mit Unten und Oben)
- 1 x 1ml-Spritze mit kleiner Kanüle

benötigte Lösungsmittel:

- Methylethylketon oder Aceton

Durchführung:

ITLC-SG - Methylethylketon (oder Aceton)

- Methylethylketon in eine Kammer füllen und vorsichtig schwenken.
- Start- und Endpunkt auf der ITLC-SG markieren.
- Einen Tropfen der ^{99m}Tc -DMSA-Probe aufbringen und ITLC in die Kammer stellen und warten, bis die Front erreicht ist.
- ITLC aus der Kammer herausnehmen und an der Luft trocknen lassen.
- ITLC in der Mitte zerschneiden und die beiden Teile in die Probenröhrchen geben und im Aktivimeter messen.

Unterer Teil: Anteil an ^{99m}Tc -DMSA und ^{99m}Tc -Kolloid

Oberer Teil: Anteil an freiem Pertechnetat.

Berechnung der radiochemischen Reinheit erfolgt nach folgender Formel:

$$\frac{\text{Unterer Teil (Start)}}{\text{Unterer Teil (Start) + Oberer Teil (Front)}} \times 100 = \text{Anteil in \% des } ^{99m}\text{Tc-DMSA}$$

Radiochemische Reinheit (RR): **mind. 95% ^{99m}Tc -DMSA**

- Auswertung protokollieren (Name, Datum, Ergebnisse)

Beachte: Problemlose Methode, es wird jedoch nur freies ^{99m}Tc -Pertechnetat nachgewiesen, dessen Anteil nicht mehr als 2% der Gesamtradioaktivität betragen darf! Die Kolloid-Bestimmung ist wesentlich komplexer.

Als Ersatz für das ITLC-SG kann hier auch das Chromatographiepapier Whatman 1 CHR (Art.Nr. 9028310, über Laborbedarf bestellen) verwendet werden, mit dem ITLC-SA können hier leider keine eindeutigen Ergebnisse erzielt werden.

Arbeitsanleitung 6

Qualitätskontrolle von ^{99m}Tc -Diphosphonaten (DPD, MDP, HDP, HEDP, ...) nach der 2-Streifenmethode

benötigte Materialien:

- 2 x Streifen ITLC-SG (1 x 8 cm)
- 2 x Chromatographie-Kammern (System 1 und 2)
- 4 x Probenröhrchen (beschriftet mit Unten 1, Oben 1, Unten 2, Oben 2)
- 1 x 1ml-Spritze mit kleiner Kanüle

benötigte Lösungsmittel:

- System 1: Methylethylketon p.a. oder Aceton
- System 2: 0,9% NaCl oder 0,1 M Natriumacetat

Durchführung:

System 1 (ITLC-SG - Aceton)

- Aceton in eine Kammer füllen.
- Start- und Endpunkt auf dem Streifen markieren.
- Einen Tropfen der ^{99m}Tc -Diphosphonat-Probe (DP) aufbringen und den Streifen in die Kammer stellen und warten, bis die Front erreicht ist.
- Streifen aus der Kammer herausnehmen und kurz an der Luft trocknen lassen.
- Streifen in der Mitte der Laufstrecke (bei 4,5 cm) zerschneiden und die beiden Teil in die Probenröhrchen geben und im Aktivimeter messen.

Unterer Teil 1 (Start 1): Anteil an ^{99m}Tc -DP und ^{99m}Tc -Kolloid

Oberer Teil 1 (Front 1): Anteil an freiem Pertechnetat ($^{99m}\text{TcO}_4^-$)

System 2 (ITLC-SG - 0,9 % NaCl)

- 0,9% NaCl in eine Kammer füllen.
- Start- und Endpunkt auf dem Streifen markieren.
- Einen Tropfen der ^{99m}Tc -DP-Probe aufbringen und den Streifen in die Kammer stellen und warten, bis die Front erreicht ist.
- Streifen aus der Kammer herausnehmen.
- Streifen in der Mitte zerschneiden und die beiden Teile in die Probenröhrchen geben und im Aktivimeter messen.

Unterer Teil 2 (Start 2): Anteil ^{99m}Tc -Kolloid

Oberer Teil 2 (Front 2): Anteil an ^{99m}Tc -DP und an freiem Pertechnetat ($^{99m}\text{TcO}_4^-$)

Berechnung des Anteils an Pertechnetat (System 1 = ITLC-SG und Aceton)

$$\frac{\text{Oben 1 (Front 1)}}{\text{Oben 1 (Start 1) + Unten 1 (Front 1)}} \times 100 = \% \text{Anteil des } ^{99m}\text{TcO}_4^-$$

Berechnung des Anteils an Kolloid (System 2 = ITLC-SG und 0,9% NaCl)

$$\frac{\text{Unten 2 (Start 2)}}{\text{Unten 2 (Start 2) + Oben 2 (Front 2)}} \times 100 = \% \text{Anteil } ^{99m}\text{Tc-Kolloids}$$

Berechnung des Anteils an ^{99m}Tc -Diphosphonat (^{99m}Tc -DP) mit Hilfe der Resultate aus den Systemen 1 und 2

$$100\% - \% \text{Anteil Pertechnetat} - \% \text{Anteil Kolloid} = \% \text{Anteil } ^{99m}\text{Tc-DP}$$

Radiochemische Reinheit (RR): 95% ^{99m}Tc -DP

- Auswertung protokollieren (Name, Datum, Ergebnisse)

Beachte:

Arbeitsanleitung 7

Vereinfachte Qualitätskontrolle von ^{99m}Tc -DPD (MDP, HDP, HEDP, ...) nach der 1-Streifen-methode

benötigte Materialien:

- 1 x Streifen ITLC-SG
- 1 x Chromatographie-Kammer (Szintillationsgefäß)
- 2 x Probenröhrchen (jeweils beschriftet mit Unten und Oben)
- 1 x 1ml-Spritze

benötigtes Lösungsmittel:

- Aceton

Durchführung:

System ITLC-SG - Aceton

- Aceton in die Kammer bis zur Markierung einfüllen (ca. 2-3 ml, eingießen, nicht mit Spritze umfüllen, da das Spritzenmaterial angegriffen wird!),
- Start- und Endpunkt auf dem Streifen markieren.
- einen Tropfen der ^{99m}Tc -Diphosphonat-Probe auf der Vorderseite (raue Oberfläche) am Startpunkt (Bleistift-Markierung) aufbringen und die ITLC mit der Pinzette in die Kammer stellen und warten, bis die Front erreicht ist,
- ITLC aus der Kammer (mit Pinzette) herausnehmen und ein wenig trocknen lassen.
- ITLC in der Mitte zerschneiden und die beiden Teile in die Probenröhrchen geben und im Aktivimeter ausmessen.

Unterer Teil (Start): Anteil an ^{99m}Tc -Phosphonat (und ^{99m}Tc -Kolloid)

Oberer Teil (Front): Anteil an freiem Pertechnetat ($^{99m}\text{TcO}_4^-$)

Die Berechnung der radiochemischen Reinheit erfolgt nach folgender Formel:

Berechnung (1-Streifenmethode)

$$\frac{\text{Unterer Teil (Start)}}{\text{Unterer Teil (Start) + Oberer Teil (Front)}} \times 100 = \% \text{ an } ^{99m}\text{Tc-Diphosphonat}$$

Radiochemische Reinheit (RR): mind. 95% ^{99m}Tc -Phosphonat

***Beachte:** Mit dieser Methode wird nur auf freies Pertechnetat geprüft und die Bestimmung von ^{99m}Tc -Pertechnetat ist mit der beschriebenen Methode unproblematisch. Der Nachweis von ^{99m}Tc -Kolloiden ist dagegen schwieriger, muss aber auch mit einem zusätzlichen Chromatographie-System durchgeführt werden. Die Hauptverunreinigung von Knochen-Kits in der Praxis stellt ^{99m}Tc -Pertechnetat dar, da ^{99m}Tc -Diphosphonate sehr oxidationsempfindlich sind und es bei Anwesenheit von Luftsauerstoff sehr schnell zur Reoxidation des Radiopharmakons zu ^{99m}Tc -Pertechnetat kommt (daher niemals Belüftungskanülen verwenden!). Die meisten Probleme können deshalb mit der 1-Streifenmethode geklärt werden.*

Arbeitsanleitung 8

Qualitätskontrolle von ^{99m}Tc -DTPA nach der 2-Streifenmethode

benötigte Materialien:

- 2 x Streifen ITLC-SG (1 x 8 cm)
- 2 x Chromatographie-Kammern (System 1 und 2)
- 4 x Probenröhrchen (jeweils beschriftet mit Unten 1, Oben 1, Unten 2, Oben 2)
- 1 x 1ml-Spritze mit kleiner Kanüle

benötigtes Lösungsmittel:

- Aceton oder Methylethylketon p.a.
- 0,9% NaCl

Durchführung:

System 1 (ITLC-SG – Aceton oder Methylethylketon)

- Aceton in eine Kammer füllen und vorsichtig schwenken.
- Start- und Endpunkt auf der ITLC-SG markieren.
- Einen Tropfen der ^{99m}Tc -DTPA-Probe aufbringen und ITLC in die Kammer stellen und warten, bis die Front erreicht ist.
- ITLC aus der Kammer herausnehmen und an der Luft trocknen lassen.
- ITLC in der Mitte zerschneiden und die beiden Teile in die Probenröhrchen geben und im Aktivimeter messen.

Unterer Teil 1 (Start 1): Anteil an ^{99m}Tc -DTPA und ^{99m}Tc -Kolloid

Oberer Teil 1 (Front 1): Anteil an freiem Pertechnetat ($^{99m}\text{TcO}_4$)

System 2 (ITLC-SG – 0,9% NaCl)

- 0,9% NaCl in eine Kammer füllen und vorsichtig schwenken.
- Start- und Endpunkt auf der ITLC-SG markieren.
- Einen Tropfen der ^{99m}Tc -DTPA-Probe aufbringen und ITLC in die Kammer stellen und warten, bis die Front erreicht ist.
- ITLC aus der Kammer herausnehmen und an der Luft trocknen lassen.
- ITLC in der Mitte zerschneiden und die beiden Teile in die Probenröhrchen geben und im Aktivimeter messen.

Unterer Teil 2 (Start 2): Anteil ^{99m}Tc -Kolloid

Oberer Teil 2 (Front 2): Anteil an ^{99m}Tc -DTPA und freiem Pertechnetat ($^{99m}\text{TcO}_4$)

Bestimmung der radiochemischen Reinheit:

Berechnung des Anteils an Pertechnetat mit System 1

$$\frac{\text{Oberer Teil 1 (Front 1)}}{\text{Oberer Teil 1 (Start 1) + Unterer Teil 1 (Front 1)}} \times 100 = \% \text{ Anteil des } ^{99m}\text{TcO}_4$$

Berechnung des Anteils an Kolloid mit System 2

$$\frac{\text{Unterer Teil 2 (Start 2)}}{\text{Unterer Teil 2 (Start 2) + Oberer Teil 2 (Front 2)}} \times 100 = \% \text{ Anteil des } ^{99m}\text{Tc-Kolloids}$$

dann Berechnung des Anteils an ^{99m}Tc -DTPA mit Hilfe der Ergebnisse von System 1 und System 2:

$$100\% - \% \text{Anteil Pertechnetat} - \% \text{Anteil Kolloid} = \% \text{Anteil } ^{99m}\text{Tc-DTPA}$$

Radiochemische Reinheit (RR): mind. 95% ^{99m}Tc -DTPA

Auswertung protokollieren (Name, Datum, Ergebnisse)

Beachte: Die Methode zur Bestimmung von ^{99m}Tc -DTPA ist unproblematisch, freies ^{99m}Tc -Pertechnetat und ^{99m}Tc -Kolloid können einfach und schnell bestimmt werden. Probleme können sich evtl. durch eine zu geringe Radioaktivitätskonzentration (<185 MBq/ml) des Ansatzes ergeben. ^{99m}Tc -DTPA ist eigentlich ein sehr stabiler Komplex. Der Kit hat einen sehr hohen Zinn-Gehalt und ist damit relativ unempfindlich.

Als Ersatz für die ITLC-SG Streifen kann auch das Chromatographie-papier Whatman 3MM CHR (Art.-Nr.3520500, über Laborbedarf zu bestellen) oder Whatman 1-Papier verwendet werden.

Arbeitsanleitung 9

Qualitätskontrolle von ^{99m}Tc -ECD nach der 1-Streifenmethode

benötigte Materialien:

- 1 x Streifen Bakerflex Silika-Gel (mit Kit geliefert bzw. bei Hersteller zu bestellen)
- 1 x Chromatographie-Kammer
- 2 x Reagenzgläschen (beschriftet mit Unten und Oben)
- 1 x 1-ml-Spritze mit kleiner Kanüle

benötigtes Lösungsmittel:

- Ethylacetat p.a.

Durchführung:

- Ethylacetat in die Kammer füllen und vorsichtig schwenken und 5 min. warten, bis sich die Kammer mit dem Lösungsmittel gesättigt hat.
- Einen Tropfen der ^{99m}Tc -ECD-Probe aufbringen und max. 10 min. trocknen lassen.
- DC-Platte in die Kammer stellen und warten, bis 7 cm Höhe erreicht sind.
- DC-Platte aus der Kammer herausnehmen und an der Luft trocknen lassen.
- Chromatogramm in der Mitte zerschneiden und die beiden Teile in die Reagenzgläschen geben und im Aktivimeter messen.

Unterer Teil (Start): Anteil an freiem Pertechetat ($^{99m}\text{TcO}_4^-$) und ^{99m}Tc -Kolloid

Oberer Teil (Front): Anteil an ^{99m}Tc -ECD

Berechnung der radiochemischen Reinheit nach folgender Formel:

$$\frac{\text{Oberer Teil (Front)}}{\text{Oberer Teil (Start) + Unterer Teil (Front)}} \times 100 = \text{Anteil in \% des } ^{99m}\text{Tc-ECD}$$

Radiochemische Reinheit (RR): mind. 90% ^{99m}Tc -ECD

Auswertung protokollieren (Name, Datum, Ergebnisse)

Beachte: Mit dieser Methode können als Verunreinigungen ^{99m}Tc -Pertechetat und ^{99m}Tc -Kolloid, die beide am Start bleiben, bestimmt werden. Zu Störungen kann es nur kommen, wenn nach Aufbringen der Probe falsch verfahren wird: zu langes Trocknen kann nämlich zu einer Oxidation des Radiopharmakons führen, d.h. es läuft auf der DC nicht nach oben. Zu kurzes Trocknen führt zu einem "Verwischen" der Aktivität auf der DC. Beides führt zu einer Überschätzung des Anteils an Verunreinigungen.

Arbeitsanleitung 10

Qualitätskontrolle von ^{99m}Tc -IDA-Derivaten nach der 2-Streifenmethode

benötigte Materialien:

- 1 x Streifen ITLC-SG
- 1 x Streifen Whatman 3MM imprägniert mit 0.3 M Natriumbicarbonat-Lösung (0,3 M Natriumbicarbonat-Lösung: 0,3 mol = 25,20 g NaHCO_3 in 1000ml Wasser lösen)
- 2 x Chromatographie-Kammern (System 1 und 2)
- 4 x Probenröhrchen (jeweils beschriftet mit Oben 1, Unten 1, Oben 2 und Unten2)
- 1 x 1ml-Spritze mit kleiner Kanüle

benötigte Lösungsmittel:

- System 1: Aceton oder Methylethylketon p.a. (= 2-Butanon)
- System 2: 50% Acetonitril

Durchführung:

System 1 (Whatman 3MM imprägniert - Methylethylketon bzw. Aceton)

Vorbereitung:

Die Imprägnierung des Papierstreifens erfolgt durch Eintauchen des Streifens in die vorbereitete Bicarbonat-Lösung in einem Becherglas. Der Streifen wird bei max. 60° C im Trockenschrank getrocknet. Mehrere Streifen können auf einmal vorbereitet und ca. einen Monat verwendet werden.

- Methylethylketon in eine Kammer füllen und vorsichtig schwenken.
- Start- und Endpunkt auf dem Whatman 3MM-Streifen markieren.
- Einen Tropfen der ^{99m}Tc -IDA-Probe aufbringen und den Streifen in die Kammer stellen und warten, bis die Front erreicht ist.
- Streifen aus der Kammer herausnehmen und an der Luft trocknen lassen.
- Streifen in der Mitte zerschneiden und die beiden Teile in die Probenröhrchen geben und im Aktivimeter messen.

Unterer Teil 1 (Start 1): Anteil an ^{99m}Tc -IDA und ^{99m}Tc -Kolloid

Oberer Teil 1 (Front 1): Anteil an freiem Pertechetat ($^{99m}\text{TcO}_4^-$)

System 2 (ITLC-SG - 50% Acetonitril)

- 50% Acetonitril in eine Kammer füllen und vorsichtig schwenken.
- Start- und Endpunkt auf der ITLC-SG markieren.
- Einen Tropfen der ^{99m}Tc -IDA-Probe aufbringen und ITLC in die Kammer stellen und warten, bis die Front erreicht ist.
- ITLC aus der Kammer herausnehmen und an der Luft trocknen lassen.
- ITLC in der Mitte zerschneiden und die beiden Teile in die Probenröhrchen geben und im Aktivimeter messen.

- **Unterer Teil 2 (Start 2):** Anteil ^{99m}Tc -Kolloid
Oberer Teil 2 (Front 2): Anteil an ^{99m}Tc -IDA und freies Pertechnetat ($^{99m}\text{TcO}_4^-$)

Berechnung der radiochemischen Reinheit nach folgender Formel:

Berechnung des Anteils an Pertechnetat mit System 1

$$\frac{\text{Oberer Teil 1 (Front 1)}}{\text{—}} \times 100 = \% \text{ Anteil des } ^{99m}\text{TcO}_4^-$$

Berechnung des Anteils an Kolloid mit System 2

$$\frac{\text{Unterer Teil 2 (Start 2)}}{\text{Unterer Teil 2 (Start 2) + Oberer Teil 2 (Front 2)}} \times 100 = \% \text{ Anteil des } ^{99m}\text{Tc-Kolloids}$$

dann Berechnung des Anteils an ^{99m}Tc -IDA mit Hilfe der Ergebnisse von System 1 und System 2:

$$100\% - \% \text{ Anteil Pertechnetat} - \% \text{ Anteil Kolloid} = \% \text{ Anteil } ^{99m}\text{Tc-DTPA}$$

Radiochemische Reinheit (RR): mind. 95% ^{99m}Tc -IDA

Auswertung protokollieren (Name, Datum, Ergebnisse)

Beachte: Mit dem imprägnierten Whatman 3MM-Streifen wird ^{99m}Tc -Pertechnetat und mit dem ITLC-SG der Anteil an ^{99m}Tc -Kolloid bestimmt. Beide Verunreinigungen spielen eine wichtige Rolle, da freies Pertechnetat über die Nieren ausgeschieden wird und eine Nierenausscheidung von IDA-Derivaten auch eine pathologische Leberfunktion andeuten würde; ^{99m}Tc -Kolloid wird in der Leber gespeichert und nicht ausgeschieden (zu hohe Restaktivität in der Leber).

Arbeitsanleitung 11

Qualitätskontrolle von ^{99m}Tc -Kolloiden nach der 1-Streifenmethode (Schwefelkolloid etc.)

benötigte Materialien:

- 1 x Streifen ITLC-SG
- 1 x Chromatographie-Kammer
- 2 x Probenröhrchen (jeweils beschriftet mit Unten und Oben)
- 1 x 1ml-Spritze mit kleiner Kanüle

benötigtes Lösungsmittel:

- Methylethylketon p.a. (= 2-Butanon) oder Aceton

Durchführung:

ITLC-SG – Methylethylketon oder Aceton

- Methylethylketon in eine Kammer füllen und vorsichtig schwenken.
- Start- und Endpunkt auf der ITLC-SG markieren.
- Einen Tropfen der ^{99m}Tc -Kolloid-Probe aufbringen und ITLC in die Kammer stellen und warten, bis die Front erreicht ist.
- ITLC aus der Kammer herausnehmen und an der Luft trocknen lassen.
- ITLC in der Mitte zerschneiden und die beiden Teile in die Probenröhrchen geben und im Aktivimeter messen.

Unterer Teil (Start): Anteil an ^{99m}Tc -Kolloid

Oberer Teil (Front): Anteil an freiem Pertechnetat ($^{99m}\text{TcO}_4^-$)

Berechnung der radiochemischen Reinheit nach folgender Formel:

$$\frac{\text{Unterer Teil (Start)}}{\text{Unterer Teil (Start) + Oberer Teil (Front)}} \times 100 = \% \text{ Anteil } ^{99m}\text{Tc-Kolloids}$$

Radiochemische Reinheit (RR): mind. 95% ^{99m}Tc -Kolloide

Auswertung protokollieren (Name, Datum, Ergebnisse)

Beachte: Eine Bestimmung von ^{99m}Tc -Kolloiden erfolgt nicht, da eine Abtrennung vom Radiopharmakon auf Grund der ähnlichen chemischen Eigenschaften (unlösliches kolloidales Material) kaum möglich ist, ansonsten eine völlig problemlose Methode.

Arbeitsanleitung 12

Qualitätskontrolle von ^{99m}Tc -MAA (makroaggregiertes Human-Albumin)

benötigte Materialien:

- 1 x kleinporiger Sterilfilter (0,2 \rightarrow m, 0,45 \rightarrow m oder auch 3 \rightarrow m erhältlich)
- 1 x 20 ml-Probenröhrchen (oder 2 x 10 ml-Probenröhrchen)

benötigtes Lösungsmittel:

- 20 ml isot. Kochsalz-Lösung

Durchführung:

- 0,1 – 0,3 ml des ^{99m}Tc -MAA werden auf den Filter aufgebracht (ohne Luft!).
 - Danach wird der Filter mit 20 ml NaCl-Lösung gewaschen und das Filtrat gesammelt.
 - Filter und Filtrat werden im Aktivimeter ausgemessen.
- Im Filtrat: hauptsächlich Pertechneat ($^{99m}\text{TcO}_4^-$), kleinere markierte Proteinpartikel und zum Teil ^{99m}Tc -Kolloid
- Im Filter: Anteil an ^{99m}Tc -MAA und ^{99m}Tc -Kolloid

Berechnung der radiochemischen Reinheit nach folgender Formel:

$$\frac{\text{Radioaktivität Filter}}{\text{Radioaktivität Filtrat} + \text{Radioaktivität Filter}} \times 100 = \text{Anteil in \% des } ^{99m}\text{Tc-MAA}$$

Radiochemische Reinheit (RR): mind. 95% ^{99m}Tc -MAA

Auswertung protokollieren (Name, Datum, Ergebnisse)

Beachte: Im Eluat sind freies ^{99m}Tc -Pertechneat, zum Teil ^{99m}Tc -Kolloid und alle markierten Partikel mit kleinerem Durchmesser als der Filter, die mit einer DC-Methode nicht erfasst werden können.

Arbeitsanleitung 13

Qualitätskontrolle von ^{99m}Tc -MAG3 nach der Kartuschen-Methode (Sep-Pak)

benötigte Materialien:

- 4 x 5ml-Spritzen
- 1 x 1ml-Spritze
- 1 x Kartusche Waters Sep-Pak C18 Light
- 2 x 10ml-Probenröhrchen (beschriftet mit A und B)
- 1 x Probengefäß für die Kartusche (beschriftet mit C)

benötigte Lösungen:

- 1 x Spritze mit 5 ml Ethanol (mind. 96% oder Ethanol absolut) füllen;
- 2 x Spritzen mit 5 ml 0,001 N Salzsäure-Lösung füllen;
- 1 x Spritze mit 5 ml Ethanol/0,9% isot. Kochsalz-Lösung (1:1) vorbereiten
- vom ^{99m}Tc -MAG3-Ansatz 0,1 ml in der 1ml-Spritze aufziehen

Durchführung:

- Kartusche mit 5 ml Ethanol vorspülen (langsam Tropfen für Tropfen das Lösungsmittel durchdrücken)
- Kartusche ebenfalls mit 5 ml 0,001 N HCl vorspülen
- jetzt ^{99m}Tc -MAG3-Probe auf Kartusche aufbringen
- Kartusche mit 5 ml 0,001 N HCl eluieren und in Probenröhrchen A sammeln
Anteil an freiem Pertechneat ($^{99m}\text{TcO}_4^-$): Fraktion A
- Kartusche mit Ethanol/0,9% NaCl-Lösung eluieren und in B sammeln
Anteil an ^{99m}Tc -MAG3: Fraktion B
- auf der Kartusche verbleibt noch ^{99m}Tc -Kolloid: Fraktion C
- alle drei Fraktionen A, B und C im Aktivimeter messen

Berechnung der radiochemischen Reinheit nach folgender Formel:

$$\frac{\text{Fraktion B}}{\text{Fraktion A} + \text{Fraktion B} + \text{Fraktion C}} \times 100 = \text{Anteil in \% des } ^{99m}\text{Tc-MAG3}$$

Radiochemische Reinheit (RR): mind. 95% ^{99m}Tc -MAG3

Auswertung protokollieren (Name, Datum, Ergebnisse)

Beachte: Besonders wichtig bei dieser Methode ist es, darauf zu achten, dass die Säule nicht zu schnell und möglichst gleichmäßig eluiert wird, da es sonst zu Artefakten kommen kann. Mögliche Verunreinigungen sind freies ^{99m}Tc -Pertechneat, ^{99m}Tc -Kolloid, ^{99m}Tc -Tartrat und lipophile Verunreinigungen. Die radiochemische Reinheit sollte mindestens 96% betragen, besonders wichtig ist dies, wenn eine Quantifizierung vorgenommen werden soll.

Arbeitsanleitung 14

Qualitätskontrolle von ^{99m}Tc -MAG3 nach der 2-Streifenmethode

benötigte Materialien:

- 2 x Streifen ITLC-SG
- 2 x Chromatographie-Kammern (System 1 und 2)
- 4 x Probenröhrchen (jeweils beschriftet mit Oben 1, Unten 1, Oben 2 und Unten 2)
- 1 x 1ml-Spritze mit kleiner Kanüle

benötigte Lösungsmittel:

- System 1: Ethylacetat/Methylethylketon p.a. (= 2-Butanon) 3:2
- System 2: 50% Acetonitril

Durchführung:

System 1 (ITLC-SG - Ethylacetat/Methylethylketon 3:2)

- Ethylacetat/Methylethylketon-Gemisch in eine Kammer füllen und vorsichtig schwenken.
- Start- und Endpunkt auf der ITLC-SG markieren.
- Einen Tropfen der ^{99m}Tc -MAG3-Probe aufbringen und den Streifen in die Kammer stellen und warten, bis die Front erreicht ist.
- Streifen aus der Kammer herausnehmen und antrocknen lassen.
- Streifen in der Mitte zerschneiden und die beiden Teile in die Probenröhrchen geben und im Aktivimeter messen.

Unterer Teil 1 (Start 1): Anteil an ^{99m}Tc -MAG3 und ^{99m}Tc -Kolloid

Oberer Teil 1 (Front 1): Anteil an freiem Pertechnetat ($^{99m}\text{TcO}_4$)

System 2 (ITLC-SG - 50% Acetonitril)

- 50% Acetonitril in eine Kammer füllen und vorsichtig schwenken.
- Start- und Endpunkt auf der ITLC-SG markieren.
- Einen Tropfen der ^{99m}Tc -MAG3-Probe aufbringen und ITLC in die Kammer stellen und warten, bis die Front erreicht ist.
- ITLC aus der Kammer herausnehmen und an der Luft trocknen lassen.
- ITLC in der Mitte zerschneiden und die beiden Teile in die Probenröhrchen geben und im Aktivimeter messen.

Unterer Teil 2 (Start 2): Anteil ^{99m}Tc -Kolloid

Oberer Teil 2 (Front 2): Anteil an ^{99m}Tc -MAG3 und freies Pertechnetat ($^{99m}\text{TcO}_4$)

Berechnung der radiochemischen Reinheit nach folgender Formel:

Berechnung des Anteils an Pertechnetat mit System 1

$$\frac{\text{Oberer Teil 1 (Front 1)}}{\text{Oberer Teil 1 (Start 1) + Unterer Teil 1 (Front 1)}} \times 100 = \% \text{Anteil des } ^{99m}\text{TcO}_4$$

Berechnung des Anteils an Kolloid mit System 2

$$\frac{\text{Unterer Teil 2 (Start 2)}}{\text{Oberer Teil 1 (Start 1) + Unterer Teil 1 (Front 1)}} \times 100 = \% \text{Anteil des } ^{99m}\text{Tc-Kolloids}$$

dann Berechnung des Anteils an ^{99m}Tc -MAG3 mit Hilfe der Ergebnisse von System 1 und System 2:

$$100\% - \% \text{Anteil Pertechnetat} - \% \text{Anteil Kolloid} = \% \text{Anteil } ^{99m}\text{Tc-MAG3}$$

Radiochemische Reinheit (RR): mind. 96% ^{99m}Tc -MAG3

Auswertung protokollieren (Name, Datum, Ergebnisse)

Beachte: Mit dem aufwändigen Lösungsmittel-Gemisch Ethylacetat/MEK 3:2 wird ^{99m}Tc -Pertechnetat und mit dem System Acetonitril (50%)/ITLC-SG der Anteil an ^{99m}Tc -Kolloid bestimmt. Nachteilig an dieser Methode ist der Aufwand mit den vielen verschiedenen Lösungsmitteln, die als Sondermüll entsorgt werden müssen. Zudem ist die Mischung aus Ethylacetat/MEK nicht stabil, d.h. auf Grund der unterschiedlichen Siedepunkte verändert sich die Zusammensetzung des Gemisches.

Arbeitsanleitung 15

Qualitätskontrolle von ^{99m}Tc -markierten monoklonalen Antikörpern (MAK) nach der 1-Streifenmethode (Anti-CEA, Anti-Granulozyt u.a.)

benötigte Materialien:

- 1 x Streifen ITLC-SG
- 1 x Chromatographie-Kammer
- 2 x Probenröhrchen (jeweils beschriftet mit Unten und Oben)

benötigtes Lösungsmittel:

- Methylethylketon (2-Butanon) p.a. oder Aceton

Durchführung:

ITLC-SG – Methylethylketon oder Aceton

- Methylethylketon in eine Kammer füllen und vorsichtig schwenken.
- Start- und Endpunkt auf der ITLC-SG markieren.
- Einen Tropfen der ^{99m}Tc -MAK-Probe aufbringen und ITLC in die Kammer stellen und warten, bis die Front erreicht ist.
- ITLC aus der Kammer herausnehmen und an der Luft trocknen lassen.
- ITLC in der Mitte zerschneiden und die beiden Teile in die Probenröhrchen geben und im Aktivimeter messen.

Unterer Teil (Start): Anteil an ^{99m}Tc -MAK und ^{99m}Tc -Kolloid

Oberer Teil (Front): Anteil an freiem Pertechmetat ($^{99m}\text{TcO}_4$)

Berechnung der radiochemischen Reinheit nach folgender Formel:

$$\frac{\text{Unterer Teil (Start)}}{\text{Unterer Teil (Start)} + \text{Oberer Teil (Front)}} \times 100 = \% \text{Anteil } ^{99m}\text{Tc-MAK}$$

Radiochemische Reinheit (RR): **mind. 95% ^{99m}Tc -MAK**

Auswertung protokollieren (Name, Datum, Ergebnisse)

Beachte: Die Art der Verunreinigungen, die auftreten können, hängt von der jeweiligen Markierungsart des Antikörpers ab. Bei den meisten Präparaten (Anti-Granulozyt, Anti-CEA) tritt als Hauptverunreinigung ^{99m}Tc -PTP (ein schwacher ^{99m}Tc -Komplex) auf. ^{99m}Tc -Kolloide können nicht erfasst werden, da sie wie der markierte Antikörper ebenfalls am Start bleiben. Bei der Verwendung von organischen Lösungsmitteln als Eluent handelt es sich außerdem um eine destruktive Methode, da die Proteine denaturiert werden. Deshalb ist es auch nicht möglich, Antikörperfragmente oder Aggregate zu bestimmen. Diese können nur mit der HPLC erfasst werden. Ansonsten ist die Methode unproblematisch.

Arbeitsanleitung 16

Qualitätskontrolle von ^{99m}Tc -MIBI nach der 1-Streifenmethode

benötigte Materialien:

- 1 x Streifen Bakerflex Aluminiumoxid (mit Kit geliefert bzw. kann mitbestellt werden)
- 1 x Chromatographie-Kammer
- 2 x Reagenzgläschen
- 2 x 1ml-Spritzen mit kleiner Kanüle (1x für Probe, 1 x für Ethanol)

benötigtes Lösungsmittel:

- Ethanol p.a.

Durchführung:

- Ethanol in die Kammer füllen und vorsichtig schwenken und 5 min. Warten, bis sich die Kammer mit dem Lösungsmittel gesättigt hat.
- Ein Tropfen Ethanol wird am Auftragspunkt aufgetropft, auf den noch im feuchten Zustand die ^{99m}Tc -MIBI-Probe aufgebracht wird. Nicht trocknen lassen!
- DC-Platte in die Kammer stellen und warten, bis 7 cm Höhe erreicht sind.
- DC-Platte aus der Kammer herausnehmen und an der Luft trocknen lassen.
- Chromatogramm in der Mitte zerschneiden und die beiden Teile in die Reagenzgläschen geben und im Aktivimeter messen.

Unterer Teil (Start): Anteil an freiem Pertechmetat ($^{99m}\text{TcO}_4$) und ^{99m}Tc -Kolloid

Oberer Teil (Front): Anteil an ^{99m}Tc -MIBI

Berechnung der radiochemischen Reinheit nach folgender Formel:

$$\frac{\text{Oberer Teil (Front)}}{(\text{Unterer Teil (Start)} + \text{Oberer Teil (Front)})} \times 100 = \% \text{Anteil } ^{99m}\text{Tc-MIBI}$$

Radiochemische Reinheit (RR): **mind. 95% ^{99m}Tc -MIBI**

Auswertung protokollieren (Name, Datum, Ergebnisse)

Beachte: ^{99m}Tc -MIBI wandert mit der Lösungsmittelfront, freies ^{99m}Tc -Pertechmetat und ^{99m}Tc -Kolloid bleiben am Start zurück. Aluminiumoxid wirkt als schwacher Anionenaustauscher, das negativ geladene ^{99m}Tc -Pertechmetat wandert deshalb nicht und das in Ethanol unlösliche ^{99m}Tc -Kolloid auch nicht.

Die Methode gelingt relativ problemlos, nur bei Verwendung einer zu großen Probe (= großer Tropfen) und zu wenig Ethanol an der Auftragsstelle kann es zu einer Verbreiterung des Peaks und zu einem Verschmieren der Radioaktivität auf der DC kommen. Beim Zerschneiden der Platte erhält man dann Artefakte und überschätzt damit den Anteil der Verunreinigungen.

Arbeitsanleitung 17

Qualitätskontrolle von ^{99m}Tc -MIBI nach der Kartuschenmethode

benötigte Materialien:

- 1 x Waters Alumina N Sep-Pak Kartusche
- 1 x 10ml-Spritze für Ethanol
- 1 x 3ml-Spritze für Ethanol zum Vorspülen
- 1 x 1ml-Spritzen für Probe
- 1 x Reagenzgläschen
- 1 x Probengefäß für Kartusche

benötigtes Lösungsmittel:

- Ethanol p.a.

Durchführung:

- Kartusche mit 3 ml Ethanol konditionieren, aufgefangene Lösung verwerfen.
- Probe (0,05 – 0,1 ml Volumen) aufgeben.
- Mit 10 ml Ethanol langsam eluieren und im Reagenzglas auffangen.
- Kartusche ins Probengefäß geben.
- Reagenzglas und Probengefäß mit Kartusche im Aktivimeter messen.

Kartusche: Anteil an freiem Pertechetat und ^{99m}Tc -Kolloid

Eluat: Anteil an ^{99m}Tc -MIBI

Berechnung der radiochemischen Reinheit nach folgender Formel:

$$\frac{\text{Radioaktivität Eluat}}{\text{Radioaktivität Kartusche} + \text{Radioaktivität Eluat}} \times 100 = \% \text{Anteil } ^{99m}\text{Tc-MIBI}$$

Radiochemische Reinheit (RR): mind. 94% ^{99m}Tc -MIBI

Beachte: Unproblematische Methode, sehr einfach und unkompliziert in der Durchführung. Ein großer Vorteil ist es, dass ein Untergrundabzug bei der Messung nicht durchgeführt werden muss, da die Messwerte relativ groß sind und so keine Auswirkungen auf die Berechnung der radiochemischen Reinheit zu befürchten sind.

Arbeitsanleitung 18

Qualitätskontrolle von ^{99m}Tc -Nanocoll nach der 1-Streifenmethode

benötigte Materialien:

- 1 x Streifen ITLC-SG
- 1 x Chromatographie-Kammer
- 2 x Probenröhrchen (jeweils mit Unten und Oben beschriftet)

benötigtes Lösungsmittel:

- Aceton

Durchführung:

ITLC-SG - Aceton

- Aceton in eine Kammer füllen und vorsichtig schwenken.
- Start- und Endpunkt auf der ITLC-SG markieren.
- Einen Tropfen der ^{99m}Tc -Nanocoll-Probe aufbringen und ITLC in die Kammer stellen und warten, bis die Front erreicht ist.
- ITLC aus der Kammer herausnehmen und an der Luft trocknen lassen.
- ITLC in der Mitte zerschneiden und die beiden Teile in die Probenröhrchen geben und im Aktivimeter messen.

Unterer Teil (Start): Anteil an ^{99m}Tc -Nanocoll und ^{99m}Tc -Kolloid

Oberer Teil (Front): Anteil an freiem Pertechetat ($^{99m}\text{TcO}_4^-$)

Berechnung der radiochemischen Reinheit nach folgender Formel:

$$\frac{\text{Unterer Teil (Start)}}{\text{Unterer Teil (Start)} + \text{Oberer Teil (Front)}} \times 100 = \text{Anteil in \% des } ^{99m}\text{Tc-Nanocoll}$$

Radiochemische Reinheit (RR): mind. 95% ^{99m}Tc -Nanocoll

Beachte: Eine Bestimmung von ^{99m}Tc -Kolloiden erfolgt nicht, da eine Abtrennung vom Radiopharmakon aufgrund der ähnlichen chemischen Eigenschaften (unlösliches kolloidales Material) kaum möglich ist.

Ansonsten ist die Methode völlig problemlos.

Arbeitsanleitung 19

Qualitätskontrolle von ^{99m}Tc -Tetrofosmin

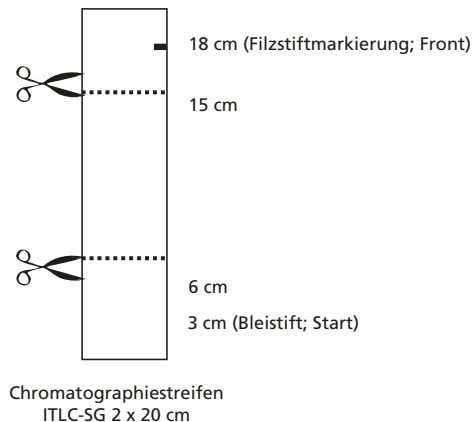
benötigte Materialien:

- 1 x Streifen ITLC-SG (2x20 cm)
- 1 x Chromatographie-Kammer
- 3 x Reagenzgläschen (beschriftet mit Unten, Mitte und Oben)

benötigte Lösungsmittel:

- Aceton p.a
- Dichlormethan p.a.

Durchführung:



- Ein Gemisch aus Aceton und Dichlormethan (35:65) in die Kammer füllen und vorsichtig schwenken und 1-2 min. warten, bis sich die Kammer mit dem Lösungsmittel gesättigt hat.
- Ein Tropfen ^{99m}Tc -Tetrofosmin-Probe am Auftragspunkt auftropfen.
Nicht trocknen lassen!
- DC-Platte in die Kammer stellen und warten, bis die Filzstiftmarke (18 cm) erreicht ist.
- DC-Platte aus der Kammer herausnehmen und an der Luft trocknen lassen.
- Chromatogramm an den bezeichneten Stellen (6 und 15 cm) zerschneiden und die Teile in die Reagenzgläschen geben und im Aktivimeter messen.

Start: Anteil an ^{99m}Tc -Kolloid: Fraktion A

Mitte: bei einem Rf: 0,2-0,8 findet sich ^{99m}Tc -Tetrofosmin: **Fraktion B**

Front: Anteil an freiem Pertechnetat ($^{99m}\text{TcO}_4^-$): **Fraktion C**

Berechnung der radiochemischen Reinheit nach folgender Formel:

$$\frac{\text{Fraktion B (Mitte)}}{\text{Fraktion A (Start) + Fraktion B (Mitte) + Fraktion C (Front)}} \times 100 = \text{Anteil in \% des } ^{99m}\text{Tc-Tetrofosmins}$$

Radiochemische Reinheit (RR): **mind. 90% ^{99m}Tc -Tetrofosmin**

Beachte: Mit dieser Methode wird sowohl freies Pertechnetat (Front) als auch Kolloid (Start) erfasst. Das Radiopharmakon liegt im Mittelteil des Chromatogramms ziemlich "verschmiert" über einen großen Bereich vor. Die Auswertung ohne Scanner ist dadurch schwieriger, da es durch ungenaues Schneiden leicht zu falschen Ergebnissen kommen kann.

Arbeitsanleitung 20

Qualitätskontrolle von ^{99m}Tc -Tetrofosmin nach der Kartuschenmethode

benötigte Materialien:

- 1 x Waters Alumina N Sep-Pak Kartusche
- 1 x 10ml-Spritze für Ethanol
- 1 x 3ml-Spritze für Ethanol zum Vorspülen
- 1 x 1ml-Spritzen für Probe
- 1 x Reagenzgläschen
- 1 x Probengefäß für Kartusche

benötigtes Lösungsmittel:

- Ethanol p.a.

Durchführung:

- Kartusche mit 3 ml Ethanol konditionieren, aufgefangene Lösung verwerfen.
 - Probe (0,05 – 0,1 ml Volumen) aufgeben.
 - Mit 10 ml Ethanol langsam eluieren und im Reagenzglas auffangen.
 - Kartusche ins Probengefäß geben.
 - Reagenzglas und Probengefäß mit Kartusche im Aktivimeter messen.
- Kartusche: Anteil an freiem Pertechetat und ^{99m}Tc -Kolloid
Eluat: Anteil an ^{99m}Tc -Tetrofosmin

Berechnung der radiochemischen Reinheit nach folgender Formel:

$$\frac{\text{Radioaktivität Eluat}}{\text{Radioaktivität Kartusche} + \text{Radioaktivität Eluat}} \times 100 = \text{Anteil in \% des } ^{99m}\text{Tc-Tetrofosmin}$$

Radiochemische Reinheit (RR): mind. 94% ^{99m}Tc -Tetrofosmin

Beachte:

Diese Methode entspricht der Qualitätskontrolle mit Kartusche beim MIBI.

Arbeitsanleitung 21

Qualitätskontrolle von ^{99m}Tc -UltraTAG RBC

benötigte Materialien:

- 2 x Probenröhrchen (je 10 ml)

benötigtes Lösungsmittel:

- 10 ml isot. NaCl-Lösung

Durchführung:

- 0,2-0,3 ml der fertigen Erythrozytenpräparation werden in ein Probenröhrchen überführt.
- Danach wird die Probe mit NaCl-Lösung möglichst genau auf 10 ml mit einer Pipette aufgefüllt und gut durchmischt.
- Das Röhrchen wird bei 4000 U/min. (wie bei Serumgewinnung, abhängig von der verwendeten Zentrifuge) für 3-5 min zentrifugiert.
- 5 ml werden mit einer Pipette vom Überstand abgenommen und in das zweite Probenröhrchen überführt.
- Beide Röhrchen werden dann in der Ionisationskammer gemessen

Im Sediment: ^{99m}Tc -markierte Erythrozyten: **Fraktion A**

Im Überstand: nicht gebundene Aktivität: **Fraktion B**

Berechnung der radiochemischen Reinheit nach folgender Formel:

$$\frac{\text{Fraktion A} - \text{Fraktion B}}{\text{Fraktion A} + \text{Fraktion B}} \times 100 = \text{Anteil in \% der } ^{99m}\text{Tc-markierten Erythrozyten}$$

Radiochemische Reinheit (RR): > 95% ^{99m}Tc -markierte Erythrozyten

- Auswertung protokollieren (Name, Datum, Ergebnisse)

Beachte: Die Berechnung ist einfacher, wenn man den gesamten Überstand abnimmt. Dies ist allerdings nicht so einfach, da häufig einige Erythrozyten mitgenommen werden, die dann das Ergebnis deutlich verfälschen können.

Arbeitsanleitung 22

Qualitätskontrolle von ^{99m}Tc -HMPAO nach der 2-Streifenmethode

benötigte Materialien:

- 2x Streifen ITLC-SG
- 2x Chromatographie-Kammern (System 1 und 2)
- 4x Probenröhrchen (beschriftet mit Unten 1, Oben 1, Unten 2 und Oben 2)
- 1x 1ml-Spritze

benötigtes Lösungsmittel:

- 0,9% NaCl
- Aceton oder Methylethylketon p.a.

Durchführung:

System 1 (ITLC-SG - Aceton oder MEK)

- Aceton (oder MEK) in eine Kammer füllen und vorsichtig schwenken.
- Start- und Endpunkt auf dem Streifen markieren.
- Einen Tropfen der ^{99m}Tc -HMPAO-Probe aufbringen und den Streifen in die Kammer stellen und warten, bis die Front erreicht ist.
- Streifen aus der Kammer herausnehmen und an der Luft trocknen lassen.
- Streifen in der Mitte der Laufstrecke (bei 4,5 cm) zerschneiden und die beiden Teile in die Probenröhrchen geben und im Aktivimeter messen.

Unten 1 (Start): Anteil an sekundärem ^{99m}Tc -HMPAO und ^{99m}Tc -Kolloid

Oben 1 (Front): Anteil an primärem ^{99m}Tc -HMPAO und freiem Pertechnetat

System 2 (ITLC-SG - 0,9 % NaCl)

- 0,9% NaCl in eine Kammer füllen und vorsichtig schwenken.
- Start- und Endpunkt auf dem Streifen markieren.
- Einen Tropfen der ^{99m}Tc -HMPAO-Probe aufbringen und den Streifen in die Kammer stellen und warten, bis die Front erreicht ist.
- Streifen aus der Kammer herausnehmen und an der Luft trocknen lassen.
- Streifen in der Mitte zerschneiden und die beiden Teile in die Probenröhrchen geben und im Aktivimeter messen.

Unten 1 (Start): Anteil primäres u. sekundäres ^{99m}Tc -HMPAO und ^{99m}Tc -Kolloid

Oben 1 (Front): Anteil an freiem Pertechnetat ($^{99m}\text{TcO}_4$)

Berechnung der radiochemischen Reinheit nach folgender Formel:

Berechnung des Anteils an sek. HMPAO und Kolloid (System 1 = ITLC-SG und Aceton)

$$\frac{\text{Unten 1 (Start)}}{\text{Unten 1 (Start) + Oben 1 (Front)}} \times 100 = \% \text{Anteil des } ^{99m}\text{Tc-HMPAO und Kolloid}$$

Berechnung des Anteils an Pertechnetat (System 2 = ITLC-SG und 0,9% NaCl)

$$\frac{\text{Oben 2 (Front)}}{\text{Unten 2 (Start) + Oben 2 (Front)}} \times 100 = \% \text{ Anteil } ^{99m}\text{TcO}_4^-$$

Berechnung des Anteils an primärem ^{99m}Tc -HMPAO mit Hilfe der Ergebnisse von System 1 und System 2

$$100\% - (\% \text{Anteil sekundäres HMPAO} + \% \text{Anteil Kolloid}) - \% \text{Anteil Pertechnetat} = \% \text{Anteil primäres } ^{99m}\text{Tc-HMPAO}$$

Radiochemische Reinheit (RR): mind. 80% ^{99m}Tc -HMPAO

- Auswertung protokollieren (Name, Datum, Ergebnisse)

Beachte: Bei der Präparation des HMPAO werden zwei HMPAO-Komplexe gebildet: zum einen das hirngängige primäre ^{99m}Tc -HMPAO und das nicht-hirngängige sekundäre ^{99m}Tc -HMPAO. Da dies zu einem nicht unerheblichen Anteil geschieht, muss die radiochemische Reinheit der Präparation bestimmt werden. Man braucht 2 Testsysteme, damit man alle 3 Verunreinigungen bestimmen und somit die Reinheit berechnen kann.

Materialien und Reagenzien für die QC

- kleine Chromatographiekammer oder auch ein 100 ml-Becherglas aus dem Labor
- Einmalgefäße 20 oder 50 ml und Probenröhrchen 10 ml
- außerdem: Spritzen, Kanülen, Handschuhe, Schere, Filzstifte (wasserlöslich und nicht-wasserlöslich), Taschenrechner

	Bezugsquelle	Menge	Art.-Nr.	Bemerkungen
Lösungsmittel				
0,9% NaCl-Lsg	Apotheke			
Aceton p.a.	VWR/Merck	1 ltr.	1.00014.1000	Ersatz für MEK
Acetonitril p.a.	VWR/Merck	1 ltr.	1.00003.1000	
Aqua ad iniectionabilia	Apotheke	50 ml u. 1 ltr.		
n-Butanol p.a.	VWR/Merck	1 ltr.	1.01990.1000	
2-Butanon p.a. (= Ethylmethylketon)	VWR/Merck	1 ltr.	1.09708.1000	
Dichlormethan p.a..	VWR/Merck	1 ltr.	1.06050.1000	nur für Tetrofosmin
Ethanol rein DAB.	VWR/Merck	1 ltr.	1.00983.1000	
Methanol p.a.	VWR/Merck	1 ltr.	1.06009.1000	nur für DTPA
Ethylacetat p.a.	VWR/Merck	1 ltr.	1.09623.1000	nur für Neurolite
Essigsäure 100% p.a.	VWR/Merck	1 ltr.	1.00063.1000	nur für DMSA(V)
1 M Salzsäure	VWR/Merck	1 ltr.	1.09057.1000	
0,001 M Salzsäure: 1 ml 1M Salzsäure mit Aqua ad iniectionabilia auf 1 ltr. auffüllen				
Natriumcitrat p.a	VWR/Merck	1 kg	1.06448.1000	für ¹¹¹ In-MAK und ¹¹¹ In- Octreoscan
0,1 M Natriumcitrat-Lösung pH=5: 29,41 g Natriumcitrat in 1ltr. Aqua ad iniectionabilia lösen und mit 1 M Salzsäure auf pH=5 titrieren				
Natriumbicarbonat p.a.	VWR/Merck	1 kg	1.06268.1000	für Diphosphonate
0,1 M Natriumacetat-Lösung: 8,20 g Natriumacetat in 1 ltr. Aqua ad iniectionabilia lösen				

	Bezugsquelle	Menge	Art.-Nr.	Bemerkungen
Materialien				
ITLC-SA: mit Kiesel-säure imprägniertes Chromatographie-papier	Agilent Technologies (vormals: Varian Inc.)	50 sheets 30x11,5 cm	A120812	s.u.
ITLC-SG: mit Kieselgel imprägniertes Chromatographiepapier	Agilent Technologies (vormals: Varian Inc.)	50 sheets 30x11,5 cm	SG10001	Laborbedarf oder Agilent Technologies Sales & Services GmbH & Co.KG, Life Sciences & Chemical Analysis; Hewlett-Packard-Str. 8, 76337 Waldbronn. Telefon 0800 6031000, Fax: +49 69 95307919, CustomerCare_Germany@agilent.com; www.agilent.com/chem; www.agilent.com/chem/store
Whatman 3MM Papier Whatman 1 CHR Whatman 4 CHR	Whatman int. Ltd. Maidstone, UK	100 sheets, 20x20 cm	3030-861 3001-861 3004-919	bei Laborbedarf bestellen, lange Lieferzeit
DC Plastikfolien Kieselgel 60	Merck	25 Platten, 20x20 cm	1.05748.0001	bei Laborbedarf bestellen, lange Lieferzeit
SEP PAK C18 Light Cartridges (rot)	Waters	50 Stck	WAT023501	bei Laborbedarf bestellen, lange Lieferzeit; für MAG3 und Octreotid
SEP PAK Alumina N Plus cartridges (grün)	Waters	50 Stck	WAT020510	bei Laborbedarf bestellen, lange Lieferzeit; für MIBI und Tetrofosmin
Baker flex alumina	wird mit Kit geliefert bzw. anzu-fordern			nur für MIBI
Baker flex silica gel	wird mit Kit geliefert bzw. anzu-fordern			nur für ECD
Spritzenvorsatzfilter mit der Porengröße 0,2 oder 0,45 µm	diverse Anbieter wie PALL, Gelman, Schleicher & Schüll etc	VE = 50 Stck		Laborbedarf; nur für MAA
pH-Indikatorstäbchen Universalindi-kator pH 0-14	Merck	100 Stck	1.09535.0001	bei Laborbedarf bestellen, lange Lieferzeit

[illegible]

Erstellt am: _____ Version Nr.: _____ Überarbeitet am: _____ von: _____

[illegible]

Erstellt am: _____ Version Nr.: _____ Überarbeitet am: _____ von: _____

[illegible]

Erstellt am: _____ Version Nr.: _____ Überarbeitet am: _____ von: _____

[illegible]

Erstellt am: _____ Version Nr.: _____ Überarbeitet am: _____ von: _____

[illegible]

Erstellt am: _____ Version Nr.: _____ Überarbeitet am: _____ von: _____

[illegible]

Erstellt am: _____ Version Nr.: _____ Überarbeitet am: _____ von: _____

[illegible]

Erstellt am: _____ Version Nr.: _____ Überarbeitet am: _____ von: _____

ClimatePartner 
**klimaneutral
gedruckt**

Die CO₂-Emissionen dieses Produkts wurden
durch CO₂-Emissionszertifikate ausgeglichen.
Zertifikatsnummer: XXX
www.climatepartner.com



CURIUMTM

ALT MOABIT 91D, 10559 BERLIN

Tel.: 0800 / 72 42 986 | Fax: 0800 / 72 42 985

E-MAIL: RADIOPHARMACEUTICALS.GERMANY@CURIUMPHARMA.COM

Copyright ©2017 Curium. Alle Rechte vorbehalten

902014 | 06/2017