



Guide pour l'élaboration
des monographies de
**PRÉPARATIONS
RADIOPHARMA-
CEUTIQUES**



Pharmacopée européenne

EDQM

Édition 2018

Guide pour l'élaboration des monographies de
**PRÉPARATIONS
RADIOPHARMACEUTIQUES**
Pharmacopée européenne

Édition 2018

Version française

2018

Rédigée avec la collaboration du Comité
de Radiopharmacie de l'European
Association of Nuclear Medicine (EANM).

La reproduction de ce fichier à des fins
commerciales ou sa publication sur un site
internet payant est strictement interdite.
En cas de réutilisation de ce fichier, totale
ou partielle, il est demandé d'indiquer
clairement la source et d'informer
l'EDQM (publications.info@edqm.eu).

Direction européenne de la qualité
du médicament & soins de santé (EDQM)
Conseil de l'Europe
7, allée Kastner
CS 30026
F-67081 STRASBOURG
FRANCE

Image de couverture : © manfredxy –
Fotolia.com

Directeur de la publication : **Dr S. Keitel**

Mise en page : **EDQM**

www.edqm.eu

© Conseil de l'Europe, 2018

Table des matières

1. Monographies de préparations radiopharmaceutiques	5
1.1. Introduction	5
1.2. Titre des monographies	5
1.3. Définitions	6
1.3.1. Formules et dénominations, <i>page 6</i>	
1.4. Production	8
1.5. Caractères	9
1.6. Identification	9
1.7. Dose maximale recommandée en millilitres	10
1.8. Essai	11
1.8.1. pH, <i>page 11</i>	
1.8.2. Substances non radioactives et substances apparentées, <i>page 11</i>	
1.8.3. Solvants résiduels, <i>page 13</i>	
1.8.4. Distribution physiologique, <i>page 14</i>	
1.8.5. Stérilité, <i>page 14</i>	
1.8.6. Endotoxines bactériennes, <i>page 14</i>	
1.9. Pureté radionucléidique	15
1.10. Pureté radiochimique	16
1.11. Radioactivité	18
1.12. Conservation	18
1.13. Étiquetage	18
1.14. Impuretés	19
2. Validation analytique	19
2.1. Termes et définitions	20
2.1.1. Introduction, <i>page 20</i>	
2.1.2. Différents types de procédures analytiques, <i>page 20</i>	
2.1.3. Paramètres et exigences de validation, <i>page 21</i>	
2.1.4. Glossaire, <i>page 22</i>	
2.2. Méthodologie	23
2.2.1. Introduction, <i>page 24</i>	
2.2.2. Spécificité, <i>page 24</i>	
2.2.3. Linéarité, <i>page 26</i>	
2.2.4. Intervalle de mesure, <i>page 26</i>	
2.2.5. Exactitude, <i>page 27</i>	
2.2.6. Fidélité, <i>page 27</i>	

2.2.7.	Limite de détection, <i>page 28</i>	
2.2.8.	Limite de quantification, <i>page 29</i>	
2.2.9.	Robustesse, <i>page 30</i>	
2.2.10.	Vérification de la conformité du système, <i>page 30</i>	
2.3.	Application spécifique à des méthodes utilisées dans la Ph. Eur..	30
2.3.1.	Détermination potentiométrique du pH, <i>page 30</i>	
2.3.2.	Spectrométrie gamma, <i>page 31</i>	
2.3.3.	Comptage bêta total et spectrométrie bêta, <i>page 32</i>	
2.3.4.	Spectrométrie alpha, <i>page 32</i>	
2.3.5.	Techniques de séparation, <i>page 33</i>	
2.3.6.	Radioactivité, <i>page 37</i>	

Guide pour l'élaboration des monographies de préparations radiopharmaceutiques

1. Monographies de préparations radiopharmaceutiques

1.1. Introduction

Le présent Guide pour l'élaboration des monographies de préparations radiopharmaceutiques complète les dernières versions du Guide de rédaction de la Pharmacopée Européenne (Ph. Eur.) et du Guide technique pour l'élaboration des monographies. Les principes généraux qu'il décrit sont identiques à ceux appliqués aux monographies de substances pharmaceutiques. Pour cette raison, ce guide se concentre uniquement sur les sujets spécifiques aux préparations radiopharmaceutiques. Sauf en cas d'exemption spécifique, les exigences des monographies générales *Substances pour usage pharmaceutique (2034)* et *Préparations radiopharmaceutiques (0125)* s'appliquent aux monographies spécifiques traitant de préparations radiopharmaceutiques. Le cas échéant, d'autres textes généraux, par exemple ceux traitant des formes pharmaceutiques, s'appliquent. Afin d'éviter le moindre doute, cette règle peut dans certains cas être indiquée explicitement.

1.2. Titre des monographies

Pour une préparation radiopharmaceutique, le titre est donné en fonction de la nomenclature Dénomination commune internationale (DCI) quand elle existe. Le symbole du radionucléide suit le nom de l'entité qui constitue ou contient l'élément. Dans le titre, l'utilisation de parenthèses n'est pas destinée à suivre les règles IUPAC (indiquant un composé isotopiquement substitué), mais vise simplement indiquer que la préparation contient l'entité isotopiquement modifiée.

Exemples :

TECHNÉTIUM (^{99m}Tc) (EXAMÉTAZIME-), SOLUTION INJECTABLE D'

FLUDÉSOXYGLUCOSE (^{18}F), SOLUTION INJECTABLE DE

En l'absence de DCI, le titre doit être univoque et bien connu des utilisateurs. Le radionucléide impliqué est indiqué, tout comme la position du radionucléide dans la molécule, si plusieurs possibilités sont envisageables.

Exemple :

L-MÉTHIONINE (^{14}C méthyl), SOLUTION INJECTABLE DE, et non L-MÉTHIONINE (^{14}C), SOLUTION INJECTABLE DE

Outre les préparations à usage clinique direct, deux types de précurseurs figurent dans la section de la Pharmacopée consacrée aux préparations radiopharmaceutiques : les précurseurs radionucléidiques, par définition radioactifs, et les précurseurs chimiques, non radioactifs.

Dans le cas des précurseurs radionucléidiques, le nom de la substance est complété par POUR RADIOMARQUAGE.

Exemple :

FLUORURE (^{18}F), SOLUTION POUR RADIOMARQUAGE DE

Dans le cas d'un précurseur chimique, le nom de la substance est complété par POUR PRÉPARATIONS RADIOPHARMACEUTIQUES. Cette manière de procéder permet de publier les monographies de précurseurs dans la section des préparations radiopharmaceutiques et de distinguer les qualités adaptées aux préparations radiopharmaceutiques de celles qui ne le sont pas.

Exemple :

IOBENGUANE (SULFATE D') POUR PRÉPARATIONS RADIOPHARMACEUTIQUES

La suite du présent guide ne traite pas des précurseurs chimiques, non radioactifs, car ces derniers sont couverts de manière plus appropriée par le Guide de rédaction et le Guide technique généraux.

1.3. Définitions

1.3.1. Formules et dénominations

Les monographies de préparations radiopharmaceutiques n'ont pas pour intention d'indiquer si la substance active (le produit chimique radioactif) est « essentiellement sans entraîneur » ou « sans entraîneur ajouté », ou encore – en termes IUPAC – « marquée » ou « substituée ». En réalité, il y aura toujours des molécules contenant le nucléide naturel non radioactif, à l'état naturel. Lorsqu'il est important de connaître la quantité potentielle de molécules non radioactives de la « substance active » dans une préparation (pour des raisons liées à des risques de toxicité ou à des effets de saturation des récepteurs cibles), elle est indiquée, dans la section Teneur, en termes de radioactivité spécifique (Bq/g) ou de radioactivité molaire (Bq/mole), ou plus simplement de quantité de composé non radioactif par dose maximale recommandée en millilitres (mg par V). Dans la section Définition, le nom du principal composé chimique est indiqué conformément aux conventions IUPAC. Pour les utilisateurs de la Pharmacopée, le fait qu'un composé soit substitué ou marqué n'a que peu ou pas de signification pratique. Par conséquent, le symbole du radioisotope apparaît entre crochets immédiatement avant l'entité radiomarquée, en supposant à cette fin que tous les composés radiopharmaceutiques sont « marqués » plutôt que « substitués ».

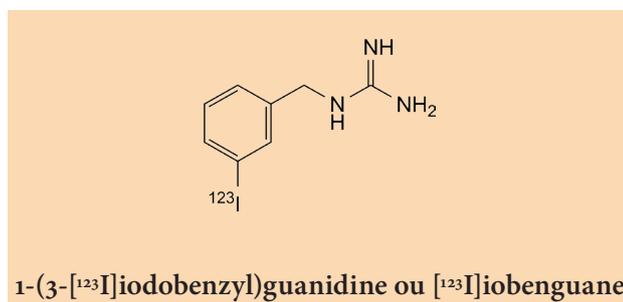
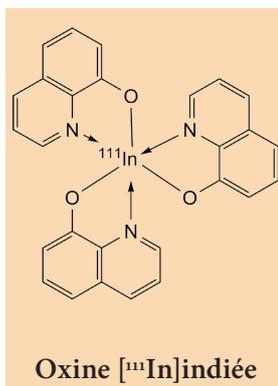
Exemples :

Solution stérile contenant du 2-^[18F]fluoro-2-désoxy-D-glucopyranose (2-^[18F]fluoro-2-désoxy-D-glucose) préparé par substitution nucléophile.

Le [nom de la préparation] est préparé en dissolvant, en présence d'un agent réducteur comme un sel stanneux, de l'acide [[[3-bromo-2,4,6-triméthylphényl]carbamoyl]méthyl]imin]diacétique (mébrofénine) dans...

Pour les substances radiomarquées bien définies, une formule développée est fournie. Elle représente une seule molécule radioactive, la substance active contenue dans la préparation. L'atome radioactif est alors indiqué sans crochets ni parenthèses.

Exemples :

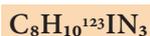


De même, la formule brute et la masse moléculaire relative sont exprimées pour une seule molécule.

Exemples :



M_r 543.5



M_r 271.2

La section Teneur n'indique que les éléments essentiels concernant la substance ou la préparation.

Exemple :

fluor-18 : 90 pour cent à 110 pour cent de la radioactivité due au fluor-18, à la date et à l'heure figurant sur l'étiquette.

Si nécessaire, la teneur maximale en molécule non radioactive dans la préparation radiopharmaceutique est indiquée afin de fournir une limite inférieure pour la radioactivité spécifique.

Exemple :

2-fluoro-2-désoxy-D-glucose : au maximum 0,5 mg par dose maximale recommandée, en millilitres.

Pour les préparations comprenant un radionucléide et un ligand, la teneur maximale en ligand du complexe peut être indiquée, par exemple, dans les cas où il peut être pharmacologiquement actif.

Exemple :

édotréotide : au maximum 50 µg par dose maximale recommandée, en millilitres.

Des spécifications de teneur ne sont fournies que si la monographie permet leur vérification.

Il n'est pas fourni de spécifications de teneur pour les substances considérées comme des impuretés.

Il est précisé, en général de manière non explicite, si des additifs peuvent être utilisés.

Exemples :

Elle peut contenir des stabilisants et des additifs inertes.

Elle peut contenir des stabilisants comme l'acide ascorbique et l'acide édétique.

Elle peut contenir un tampon approprié.

Dans les cas appropriés, la Définition indique que la monographie s'applique à la substance obtenue par une certaine voie de production. Cette information ne figure normalement pas dans le titre de la monographie.

Exemples :

La présente monographie s'applique à une solution injectable contenant de la 6-[¹⁸F] fluorolévodopa produite par substitution électrophile.

Solution stérile contenant du 2-[¹⁸F]fluoro-2-désoxy-D-glucopyranose (2-[¹⁸F]fluoro-2-désoxy-D-glucose) préparé par substitution nucléophile.

Solution stérile d'un complexe de technétium-99m avec l'hydroxyméthylènediphosphonate de sodium. Elle est préparée à partir de la solution injectable de pertechnétate (^{99m}Tc) de sodium obtenu par fission (0124), de la solution injectable de pertechnétate (^{99m}Tc) de sodium non obtenu par fission (0283) ou de la solution injectable de pertechnétate (^{99m}Tc) de sodium produit dans un accélérateur (2891).

1.4. Production

Selon les *Prescriptions générales* (chapitre 1 de la Ph. Eur.), les indications figurant sous Production constituent des normes obligatoires, sauf indication contraire. Ces exigences sont liées aux matières sources, au procédé même de production, à sa validation et à son contrôle, ou aux

essais que le fabricant est tenu d'effectuer sur le produit fini, que ce soit sur des lots choisis ou sur chaque lot avant sa libération. Ces indications ne sont pas nécessairement vérifiables sur un échantillon du produit fini.

Exemple :

L'iode-131 est obtenu par irradiation neutronique du tellure ou par extraction des produits de fission de l'uranium.

Il n'est pas nécessaire de détailler la procédure de production. Si plusieurs options existent, les procédures qui ont été évaluées au cours de l'élaboration/la révision peuvent figurer dans la base de données *Knowledge*. L'emploi de phrases du type « peut être produit par diverses réactions... » ou « la méthode employée le plus fréquemment » est à éviter. Ces indications figurent dans les définitions ou, si elles n'affectent pas directement l'interprétation et l'utilisation de la monographie, dans une note d'introduction dans *Pharmeuropa*.

1.5. Caractères

Les descriptions figurant sous Caractères ne sont pas à interpréter au sens strict et ne sont pas considérées comme des exigences analytiques. L'aspect de la préparation est décrit à titre d'information.

Exemples :

Aspect : solution limpide, incolore ou légèrement jaune.

Aspect : suspension blanche ou sensiblement blanche qui peut se séparer au repos.

Aspect : gaz incolore.

Il est aussi fait référence à la période et à la nature du rayonnement du radionucléide impliqué dans la préparation.

Exemple :

Période et nature du rayonnement du fluor-18 : voir chapitre général 5.7. Tableau des caractéristiques des radionucléides.

1.6. Identification

Cette section doit permettre de garantir la présence du bon radionucléide et la présence de la substance sous la forme chimique correcte.

Pour l'identification des radionucléides, la spectrométrie gamma ou la spectrométrie bêta sont généralement suffisantes.

Exemples :

A. Spectrométrie gamma.

Résultat : l'énergie du photon gamma principal de l'iode-123 est de 0,159 MeV.

A. Spectrométrie gamma.

Résultat : les énergies des principaux photons gamma de l'indium-111 sont de 0,171 MeV et de 0,245 MeV.

A. Spectrométrie bêta.

Résultat : l'énergie maximale des particules bêta émises par l'yttrium-90 est de 2,28 MeV.

Pour l'identification des radionucléides émetteurs de positons, la spectrométrie gamma n'est pas suffisante, car le critère « l'énergie des photons gamma principaux est de 0,511 MeV » s'applique à tous. Il doit donc être complété par des informations spécifiques relatives à la période. Dans le cas des préparations à durée de conservation courte par rapport au délai requis pour les essais préalables à la libération, la mesure précise de la période sur une durée correspondant à 3 périodes estimées n'est pas pratique ; une détermination de la « période approximative » est alors suffisante.

Exemple :

A. Spectrométrie gamma.

Résultat : l'énergie des photons gamma principaux est de 0,511 MeV et, selon la géométrie de mesure, il peut apparaître un pic somme de 1,022 MeV.

B. Période approximative : 105 min à 115 min.

L'identification de la forme chimique peut se faire par une réaction chimique spécifique et/ou une technique de séparation.

Exemples :

B. Dans un récipient de verre d'un diamètre intérieur d'environ 20 mm, placez 5-10 mg d'oxyde de magnésium R. Ajoutez 20 µL de préparation à examiner. Examinez en lumière ultraviolette à 365 nm. Il apparaît une fluorescence jaune vif.

B. À 100 µL de solution de nitrate d'argent R2, ajoutez 50 µL de préparation à examiner. Il se forme un précipité blanc.

C. Examinez les chromatogrammes obtenus dans l'essai A de pureté radiochimique (voir Essai).

Résultat : le pic principal du radiochromatogramme obtenu avec la solution à examiner est semblable quant à son temps de rétention/facteur de retardement au pic principal du chromatogramme obtenu avec la solution témoin (a).

C. Examinez les chromatogrammes obtenus dans l'essai A de pureté radiochimique (voir Essai).

Résultat : le facteur de retardement du pic principal du radiochromatogramme obtenu avec la solution à examiner est 0,0 à 0,1.

1.7. Dose maximale recommandée en millilitres

La dose maximale recommandée en millilitres (*V*) est un concept uniquement appliqué aux préparations radiopharmaceutiques dans la Pharmacopée. Pour obtenir le résultat souhaité (diagnostique ou thérapeutique) après l'administration d'une préparation radiopharmaceutique, une dose en becquerels est prescrite. En raison de la décroissance physique prévisible et inhérente à la radioactivité, l'« activité » d'une préparation radiopharmaceutique diminue avec le temps et le volume requis à injecter augmentera pour obtenir la dose de radioactivité désirée. À l'issue d'une période, il faudra doubler le volume à administrer, et le quadrupler après deux périodes. Pour cette raison, le volume à administrer d'une préparation radiopharmaceutique n'est pas défini, mais doit respecter un volume maximal recommandé en millilitres (« *V* »). Sa valeur est fondée sur

les études de développement radiopharmaceutique portant sur la qualité, la stabilité et l'innocuité des différentes formulations dans diverses conditions, ainsi que sur les données analytiques ultérieures obtenues lors de la production de lots expérimentaux. La valeur maximale de V est normalement déterminée dans le cadre d'études de validation du procédé. Dans les cas extrêmes, elle correspond au volume total d'une préparation multidose, par exemple une trousse pour préparation radiopharmaceutique reconstituée ou le résultat formulé d'un procédé de synthèse extemporanée. De nombreux essais sur les préparations radiopharmaceutiques mesurent la présence d'analytes (substances apparentées, endotoxines bactériennes, etc.) en milligrammes ou unités par millilitre, mais les limites sont spécifiées en milligrammes ou unités par V pour restreindre les quantités totales administrées. Lorsque des solutions de référence sont nécessaires, elles sont généralement complétées à V mL avant emploi. Les méthodes sont validées pour inclure la gamme des volumes et concentrations susceptibles d'être rencontrés.

1.8. Essai

S'ils sont pertinents pour la monographie, les essais de stérilité, des endotoxines bactériennes et des solvants résiduels doivent être spécifiés de manière explicite, s'ils ne sont pas couverts par la monographie générale *Préparations radiopharmaceutiques (0125)*. L'ordre des essais suit celui indiqué dans le Guide de rédaction.

1.8.1. pH

L'essai doit être effectué sur la préparation non diluée, sauf indication contraire. La valeur du pH peut être déterminée par potentiométrie (2.2.3) ou en utilisant une solution appropriée de réactif indicateur (2.2.4) ou une bandelette. L'acidité ou l'alcalinité peuvent aussi être déterminées par la méthode (2.2.4). Si un intervalle de pH est prescrit avec une décimale, il peut être utile d'indiquer le nom d'une bandelette indicatrice qui convient pour effectuer cette mesure. Cette information apparaîtra en note de bas de page pendant la phase d'élaboration de la monographie, et sera ensuite transférée dans la base de données *Knowledge* de l'EDQM.

Exemples :

pH (2.2.3) : 4,5 à 8,5.

Acidité (2.2.4) : la solution est fortement acide.

Alcalinité (2.2.4) : la solution est fortement alcaline.

pH (2.2.4) : 4 à 7.

pH (2.2.4) : 4,5 to 7,0 ⁽¹⁾

Note de bas de page : ⁽¹⁾ Les bandelettes indicatrices de pH Merck n° 109531 conviennent.

1.8.2. Substances non radioactives et substances apparentées

Exemple :

Alovudine et substances apparentées. Chromatographie liquide (2.2.29).

Cette section comprend des essais portant sur des substances non radioactives spécifiques et sur des impuretés non radioactives connues ou potentielles. Si la Définition comprend des limites

concernant la radioactivité spécifique ou la substance non radioactive de la préparation, un essai doit être spécifié pour déterminer la teneur de cette substance dans la préparation. Dans le texte d'une monographie, les impuretés (chimiques et radiochimiques) sont appelées « Impureté A », « Impureté B », etc. Elles sont décrites dans la section Impuretés, qui figure en fin de monographie, conformément aux termes du glossaire du chapitre 5.10. *Contrôle des impuretés dans les substances pour usage pharmaceutique*. Dans le texte, les titres des essais d'impuretés font référence à l'« Impureté A », l'« Impureté B », etc., mais pour la première mention de chaque impureté (par exemple dans la préparation de solutions témoins), le nom du réactif correspondant est utilisé, suivi de l'identification de l'impureté entre parenthèses.

Exemple :

Dissolvez 1,0 mg de *2-chloro-2-désoxy-D-glucose R* (impureté A) dans de l'eau R.

Les limites fixées se basent sur les résultats d'analyses de lots effectuées en routine et tiennent compte des données toxicologiques et/ou d'efficacité, ainsi que des capacités des méthodes prescrites.

L'exemple suivant peut être utilisé comme guide pour la rédaction normalisée de ce type d'essai.

Exemple :

2-Fluoro-2-désoxy-D-glucose et impureté A. Chromatographie liquide (2.2.29).

Solution à examiner. La préparation à examiner.

Solution témoin (a). Dissolvez 1,0 mg de *2-fluoro-2-désoxy-D-glucose R* dans de l'eau R et complétez à 2,0 mL avec le même solvant. Prélevez 1,0 mL de solution et complétez à V avec de l'eau R, V étant la dose maximale recommandée en millilitres.

Solution témoin (b). Dissolvez 1,0 mg de *2-chloro-2-désoxy-D-glucose R* (impureté A) dans de l'eau R et complétez à 2,0 mL avec le même solvant. Prélevez 1,0 mL de solution et complétez à V avec de l'eau R, V étant la dose maximale recommandée en millilitres.

Solution témoin (c). Dissolvez 1,0 mg de *2-fluoro-2-désoxy-D-mannose R* dans de l'eau R et complétez à 2,0 mL avec le même solvant. Mélangez 0,5 mL de cette solution et 0,5 mL de solution témoin (a).

Colonne :

– dimensions : $l = 0,25$ m, $\varnothing = 4,0$ mm ;

– phase stationnaire : résine échangeuse d'anions fortement basique pour chromatographie R (10 μ m).

Phase mobile : solution d'hydroxyde de sodium R à 4 g/L dans de l'eau exempte de dioxyde de carbone R, protégée du dioxyde de carbone de l'air.

Débit : 1 mL/min.

Détection : détecteur d'hydrates de carbone approprié pour l'intervalle de concentration requis, par exemple détecteur ampérométrique à pulsation et détecteur de radioactivité montée en série.

Injection : 20 μ L.

Enregistrement : 2 fois le temps de rétention du 2-fluoro-2-désoxy-D-glucose.

Rétention relative par rapport au 2-fluoro-2-désoxy-D-glucose (temps de rétention = environ 12 min): 2-fluoro-2-désoxy-D-mannose = environ 0,9 ; impureté A = environ 1,1.

Conformité du système : solution témoin (c), en utilisant le détecteur d'hydrates de carbone :

– résolution : au minimum 1,5 entre les pics dus au 2-fluoro-2-désoxy-D-mannose et au 2-fluoro-2-désoxy-D-glucose ;

– *rapport signal/bruit* : au minimum 10 pour le pic dû au 2-fluoro-2-désoxy-D-glucose.
Limites : dans le chromatogramme obtenu avec le détecteur d'hydrates de carbone :
 – *2-fluoro-2-désoxy-D-glucose* : au maximum la surface du pic correspondant dans le chromatogramme obtenu avec la solution témoin (a) (0,5 mg/V) ;
 – *impureté A* : au maximum la surface du pic correspondant dans le chromatogramme obtenu avec la solution témoin (b) (0,5 mg/V).

Dans certains essais, plusieurs substances apparentées peuvent être détectées ; dans ce cas, une limite relative à leur teneur totale et une limite d'exclusion peuvent être spécifiées.

Exemple :

Limites : dans le chromatogramme obtenu avec le spectrophotomètre :
 – *fluoromisonidazole* : au maximum la surface du pic correspondant dans le chromatogramme obtenu avec la solution témoin (a) (0,1 mg/V),
 – *impureté C* : au maximum la surface du pic correspondant dans le chromatogramme obtenu avec la solution témoin (b) (0,1 mg/V),
 – *toute autre impureté* : pour chaque impureté, au maximum la surface du pic principal du chromatogramme obtenu avec la solution témoin (a) (0,1 mg/V),
 – *total* : au maximum 5 fois la surface du pic principal du chromatogramme obtenu avec la solution témoin (a) (0,5 mg/V),
 – *limite d'exclusion* : 0,3 fois la surface du pic principal du chromatogramme obtenu avec la solution témoin (a) (0,03 mg/V).

La température de la colonne n'est mentionnée qu'en cas de besoin très précis ou si elle se situe en dehors l'intervalle correspondant à la température ambiante (15-25 °C). Sauf indication contraire, la température de la colonne est supposée constante.

1.8.3. Solvants résiduels

Leurs limites sont habituellement conformes au chapitre général 5.4. *Solvants résiduels*. Dans le cas des préparations dont la durée de conservation est courte par rapport au temps requis pour les essais préalables à la libération et à la distribution, l'indication « La préparation peut être libérée pour emploi avant la fin de l'essai » peut être ajoutée.

Exemple :

Solvants résiduels : limites conformes aux principes définis dans le chapitre général 5.4. *Solvants résiduels*. La préparation peut être libérée pour emploi avant la fin de l'essai.

Si une préparation radiopharmaceutique contient de l'éthanol comme excipient, des limites sont fixées pour sa concentration ou sa quantité totale par administration. Les méthodes décrites dans le chapitre 2.4.24. *Identification et contrôle des solvants résiduels* peuvent être applicables, mais en raison des niveaux admissibles plus élevés et de la gamme de volumes d'administration possibles, il peut être nécessaire de valider d'autres méthodes.

Exemple :

Éthanol (2.4.24 ou autre méthode appropriée validée) : au maximum 10 pour cent V/V et au maximum 2,5 g par administration, en prenant 0,790 g/mL comme valeur de la masse volumique (2.2.5).

1.8.4. Distribution physiologique

Les essais sur animaux sont à éviter. Certaines préparations radiopharmaceutiques peuvent comprendre un mélange de composants radiomarqués de composition variable difficiles à déterminer par d'autres méthodes analytiques. Si le ou les essais physicochimiques de pureté radiochimique ne permettent pas de complètement définir et contrôler les espèces radiochimiques présentes dans une préparation radiopharmaceutique, un essai de distribution physiologique peut être prescrit. Des indications sur la réalisation de l'essai figurent dans la monographie générale *Préparations radiopharmaceutiques (0125)*, mais, bien qu'une harmonisation avec des textes semblables soit souhaitable, la formulation de l'essai et des limites dépend de la nature précise de l'essai.

1.8.5. Stérilité

La monographie générale *Préparations radiopharmaceutiques (0125)* spécifie que « les préparations radiopharmaceutiques pour administration parentérale satisfont à l'essai de stérilité ». Il n'est donc pas nécessaire de prescrire un essai de stérilité dans les monographies spécifiques de préparations radiopharmaceutiques, sauf dans le cas suivant :

La durée de conservation est courte par rapport à la durée de l'analyse, il est donc permis de libérer la préparation avant la fin de l'essai. Il en sera alors fait mention dans la monographie :

Stérilité. La préparation à examiner satisfait à l'essai de stérilité prescrit dans la monographie *Préparations radiopharmaceutiques (0125)*. La préparation peut être libérée pour emploi avant la fin de l'essai.

1.8.6. Endotoxines bactériennes

La monographie générale *Préparations radiopharmaceutiques (0125)* spécifie que « les produits radiopharmaceutiques pour administration parentérale satisfont à l'essai des endotoxines bactériennes (2.6.14) ou à l'essai des pyrogènes (2.6.8) ». Elle précise, en outre, que « la concentration limite en endotoxines bactériennes est spécifiée dans la monographie spécifique ou calculée selon le chapitre général 5.1.10. *Recommandations pour la réalisation de l'essai des endotoxines bactériennes* ». Ce dernier chapitre indique une valeur de 2,5 UI d'endotoxine par kilogramme de masse corporelle pour la limite en endotoxines dans les produits radiopharmaceutiques administrés par voie intraveineuse, soit 175 UI par dose maximale recommandée en millilitres pour un sujet moyen de 70 kg. Il n'est donc pas nécessaire de spécifier d'essai des endotoxines bactériennes dans les monographies spécifiques de préparations radiopharmaceutiques, sauf dans les cas suivants.

- La durée de conservation est courte par rapport à la durée de l'analyse : il est alors permis de libérer la préparation pour emploi avant la fin de l'essai. La mention suivante figure alors dans la monographie.

Exemple pour une préparation prête à l'emploi :

Endotoxines bactériennes (2.6.14) : moins de $175/V$ UI/mL, V étant la dose maximale recommandée en millilitres. La préparation peut être libérée pour emploi avant la fin de l'essai.

Exemples pour des solutions de radiomarquage :

Endotoxines bactériennes (2.6.14) : moins de 20 UI/mL, si la préparation à examiner est destinée à la fabrication de préparations parentérales sans autre procédé approprié d'élimination des endotoxines bactériennes. La préparation peut être libérée pour emploi avant la fin de l'essai.

Endotoxines bactériennes (2.6.14) : moins de $175/V$ UI/mL, V étant la dose maximale recommandée, en millilitres. La préparation peut être libérée pour emploi avant la fin de l'essai.

Endotoxines bactériennes (2.6.14) : moins de 175 UI/V (V étant le volume maximal pouvant servir à la préparation d'une dose destinée à un seul patient), si la solution à examiner est destinée à la fabrication de préparations pharmaceutiques parentérales sans autre procédé approprié d'élimination des endotoxines bactériennes. La solution peut être libérée pour emploi avant la fin de l'essai.

- La limite diffère de la limite générale : elle doit alors être indiquée.

Exemple :

Endotoxines bactériennes (2.6.14) : moins de $14/V$ UI/mL, V étant égal à la dose maximale recommandée, en millilitres.

- L'échantillon n'est pas préparé selon la méthode habituelle : la préparation de l'échantillon doit alors être décrite en détail.
- L'essai par gélication ne fonctionne pas : une autre méthode d'essai doit alors être indiquée.

1.9. Pureté radionucléidique

Cette section prescrit une limite pour la teneur maximale en impuretés radionucléidiques et pour la teneur minimale du radionucléide considéré.

Exemple (pour une préparation marquée à l'iode-123) :

PURETÉ RADIONUCLÉIDIQUE

La préparation peut être libérée pour emploi avant la fin de l'essai.

Iode-123 : au minimum 99,7 pour cent de la radioactivité totale.

Spectrométrie gamma.

Déterminez les quantités relatives d'iode-123, d'iode-125, de tellure-121 et des autres impuretés radionucléidiques présentes. Pour la détection du tellure-121 et de l'iode-125, conservez la préparation à examiner pendant un temps suffisant pour que l'iode-123 puisse décroître jusqu'à un niveau résiduel permettant la détection des impuretés radionucléidiques. Aucun radionucléide de période supérieure à celle de l'iode-125 n'est détecté.

Les impuretés radionucléidiques de période supérieure à celle du radionucléide de la préparation peuvent être déterminées à l'issue d'une période de décroissance appropriée. Dans ce cas, des indications sont fournies quant à la durée de conservation d'un échantillon avant le début de la mesure des impuretés restantes à période longue et il est précisé si la préparation peut être libérée pour emploi avant la fin de cette partie de l'essai.

Exemple (pour une préparation marquée au fluor-18) :

PURETÉ RADIONUCLÉIDIQUE

La préparation peut être libérée pour emploi avant la fin de l'essai B.

Fluor-18 : au minimum 99,9 pour cent de la radioactivité totale.

A. Spectrométrie gamma.

Limite : les pics du spectre gamma correspondant aux photons ayant une énergie autre que 0,511 MeV et 1,022 MeV représentent au maximum 0,1 pour cent de la radioactivité totale.

B. Spectrométrie gamma.

Déterminez la quantité de fluor-18 et d'impuretés radionucléidiques de période supérieure à 2 h. Pour la détection et la quantification des impuretés, conservez la préparation à examiner pendant au moins 24 h pour assurer la décroissance du fluor-18 jusqu'à un niveau permettant la détection des impuretés.

Résultat : la radioactivité totale due aux impuretés radionucléidiques est au maximum de 0,1 pour cent.

Pour les produits radiopharmaceutiques marqués au technétium-99m, il n'est pas décrit d'essai de pureté radionucléidique, car ces produits sont préparés avec de la *solution injectable de pertechnétate (^{99m}Tc) de sodium obtenu par fission (0124)*, de la *solution injectable de pertechnétate (^{99m}Tc) de sodium non obtenu par fission (0283)* ou de la *solution injectable de pertechnétate (^{99m}Tc) de sodium produit dans un accélérateur (2891)*, pour lesquelles des exigences radionucléidiques sont déjà définies.

1.10. Pureté radiochimique

Cette section comprend certains des essais les plus importants et les plus spécifiques pour les préparations radiopharmaceutiques. Elle est aussi la plus difficile à rédiger de façon normalisée. Les essais de pureté permettent de s'assurer que le radionucléide considéré est présent sous la forme chimique souhaitée. Le titre de l'essai est constitué chaque fois que possible du nom de l'impureté ou des impuretés à rechercher. Les limites sont exprimées en pourcentage minimal de la radioactivité totale représenté par le radionucléide concerné sous la forme chimique souhaitée. Dans certaines circonstances, des limites peuvent également être spécifiées pour le pourcentage maximal d'impuretés radiochimiques, individuelles ou combinées.

Exemple (pour une préparation marquée au fluor-18) :

PURETÉ RADIOCHIMIQUE

[¹⁸F]Alovudine. Chromatographie liquide (2.2.29) selon les indications de l'essai Alovudine et substances apparentées. Si nécessaire, diluez la solution à examiner avec de l'eau R pour obtenir une concentration de radioactivité appropriée pour le détecteur de radioactivité.

Examinez le chromatogramme obtenu avec le détecteur de radioactivité et localisez le pic dû à la [¹⁸F]alovudine par comparaison avec le chromatogramme obtenu avec la solution témoin (a) au moyen du spectrophotomètre.

Limite :

– [¹⁸F]alovudine: au minimum 95 pour cent de la radioactivité totale due au fluor-18.

Impureté D. Chromatographie sur couche mince (2.2.27).

Solution à examiner. La préparation à examiner.

Plaque : plaque au gel de silice pour CCM R.

Phase mobile : eau R, acétonitrile R (5:95 V/V).

Dépôt : environ 5 µL.

Développement : sur les 2/3 de la plaque.

Séchage : dans un courant d'air chaud.

Détection : détecteur approprié permettant de déterminer la distribution de la radioactivité.

Facteurs de retardement : impureté D = environ 0; [¹⁸F]alovudine = environ 0,7.

Limite :

– impureté D : au maximum 5 pour cent de la radioactivité totale due au fluor-18.

Exemple (pour une préparation marquée au technétium-99m, avec une seule chromatographie sur papier ou sur couche mince) :

PURETÉ RADIOCHIMIQUE

Impureté A. Chromatographie sur couche mince (2.2.27).

Solution à examiner. La préparation à examiner.

Solution témoin (a). Dans un flacon fermé, ajoutez 2 mL de *solution injectable de pertechnétate (^{99m}Tc) de sodium obtenu par fission (0124)*, de *solution injectable de pertechnétate (^{99m}Tc) de sodium non obtenu par fission (0283)* ou de *solution injectable de pertechnétate (^{99m}Tc) de sodium produit dans un accélérateur (2891)*, contenant 100-400 MBq, à 1 mL d'une solution de chlorure stanneux R à 1 g/L dans une solution d'acide chlorhydrique R à 5,15 g/L. Utilisez cette préparation dans les 30 min.

Solution témoin (b). Dans un flacon de *médronate pour essai de pureté radiochimique SCR*, ajoutez 2 mL de *solution injectable de pertechnétate (^{99m}Tc) de sodium obtenu par fission (0124)*, de *solution injectable de pertechnétate (^{99m}Tc) de sodium non obtenu par fission (0283)* ou de *solution injectable de pertechnétate (^{99m}Tc) de sodium produit dans un accélérateur (2891)*, contenant 100-400 MBq. Laissez reposer pendant 15 min.

Plaque : plaque au gel de silice pour CCM R ; utilisez une plaque en fibre de verre.

Phase mobile : solution d'acétate de sodium R à 136 g/L.

Dépôt : environ 2 µL.

Développement : immédiatement, sur les 4/5 de la plaque.

Séchage : à l'air.

Détection : détecteur approprié permettant de déterminer la distribution de la radioactivité.

Facteurs de retardement : impureté A = 0,0-0,1 ; impureté B et médronate-[^{99m}Tc]technétium = 0,9-1,0.

Impureté B. Chromatographie sur couche mince (2.2.27).

Solution à examiner. La préparation à examiner.

Solution témoin (a). *Solution injectable de pertechnétate (^{99m}Tc) de sodium obtenu par fission (0124)*, *solution injectable de pertechnétate (^{99m}Tc) de sodium non obtenu par fission (0283)* ou *solution injectable de pertechnétate (^{99m}Tc) de sodium produit dans un accélérateur (2891)*

Solution témoin (b). La solution témoin (b) de l'essai de l'impureté A.

Plaque : plaque au gel de silice pour CCM R ; utilisez une plaque en fibre de verre.

Phase mobile : solution d'acétate de sodium R à 136 g/L.

Dépôt : environ 2 µL.

Développement : immédiatement, sur les 4/5 de la plaque.

Séchage : à l'air.

Détection : détecteur approprié permettant de déterminer la distribution de la radioactivité.

Facteurs de retardement : impureté A et médronate-[^{99m}Tc]technétium = 0,0-0,1 ; impureté B = 0,9-1,0.

Limite :

– *médronate-[^{99m}Tc]technétium* : au minimum 95 pour cent de la radioactivité totale due au technétium-99m.

Calculez le pourcentage de la radioactivité due au médronate-[^{99m}Tc]technétium à l'aide de l'expression suivante :

$$100 - (A + B)$$

A = pourcentage de la radioactivité due à l'impureté A déterminé dans l'essai de l'impureté A sous

Pureté radiochimique ;

B = pourcentage de radioactivité due à l'impureté B déterminé dans l'essai de l'impureté B sous Pureté radiochimique.

Pour déterminer la pureté radiochimique en utilisant une chromatographie liquide, la possible rétention de radioactivité sur la colonne est à envisager. Il en est tenu compte dans la formule de calcul des limites.

Exemple :

Calculez le pourcentage de radioactivité due au sestamibi- ^{99m}Tc technétium à l'aide de l'expression suivante :

$$\frac{(100 - B) \times T}{100}$$

B = pourcentage de la radioactivité due à l'impureté B déterminé dans l'essai de l'impureté B sous Pureté radiochimique ;

T = pourcentage de la radioactivité due au sestamibi- ^{99m}Tc technétium dans le chromatogramme obtenu avec la solution à examiner.

1.11. Radioactivité

Cette section correspond à la section Dosage des monographies de substances chimiques.

Exemple :

RADIOACTIVITÉ

Déterminez la radioactivité à l'aide d'un appareil étalonné.

1.12. Conservation

Des informations relatives à la conservation figurent dans la monographie générale *Préparations radiopharmaceutiques (0125)*. Si des informations supplémentaires sont nécessaires pour l'interprétation des exigences, elles figurent dans la monographie spécifique.

Exemples :

CONSERVATION

En récipient étanche, à l'abri de la lumière, à une température de 2 °C à 8 °C.

CONSERVATION

À l'abri de la lumière, à une température inférieure ou égale à 25 °C.

1.13. Étiquetage

Des informations relatives à l'étiquetage figurent dans la monographie générale *Préparations radiopharmaceutiques (0125)*. Si des informations supplémentaires sont nécessaires pour l'interprétation des exigences, elles figurent dans la monographie spécifique.

Exemples :

ÉTIQUETAGE

L'étiquette indique :

– que la solution ne convient pas pour un usage direct chez l'homme ;

- que l'utilisateur est tenu de vérifier que la teneur en impuretés métalliques et en strontium-90 est suffisamment faible pour l'application considérée,
- dans les cas appropriés, que la substance convient à la fabrication de préparations parentérales.

ÉTIQUETAGE

L'étiquette indique la teneur pour cent en éthanol de la préparation.

ÉTIQUETAGE

L'étiquette indique la radioactivité spécifique exprimée en gigabecquerels d'iode-123 par gramme d'iobenguane base.

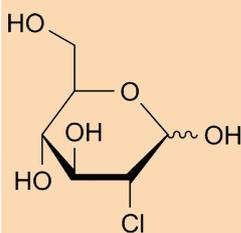
1.14. Impuretés

Voir chapitre général 5.10. *Contrôle des impuretés dans les substances pour usage pharmaceutique.*

Les impuretés chimiques, radiochimiques ou radionucléidiques potentielles faisant l'objet de limites dans les essais prescrits figurent dans une liste, accompagnées si possible d'une formule développée.

Exemples :

Impuretés spécifiées : A, B, C, D, E.



- A. 2-chloro-2-désoxy-D-glucopyranose (2-chloro-2-désoxy-D-glucose),
E. [¹⁸F]fluorure.

- A. [^{99m}Tc]technétium sous forme colloïdale,
B. ion [^{99m}Tc]pertechnétate.

- A. iode-125,
B. tellure-121,
C. ion [¹²³I]iodate.

Les impuretés inorganiques non radioactives (comme les métaux, par exemple) ne figurent pas dans la section Impuretés.

2. Validation analytique

Cette section traite des aspects à considérer pour la validation des essais prescrits dans les monographies de préparations radiopharmaceutiques de la Ph. Eur. Elle couvre la validation des essais d'identification, des essais – instrumentaux ou non instrumentaux — de contrôle de la pureté radiochimique et de la pureté radionucléidique, et des déterminations de radioactivité. Les exigences de validation varient selon le type d'essai considéré et la technique utilisée.

Les procédures analytiques considérées ici sont principalement celles portant sur la détermination/mesure de la radioactivité, ainsi que celles qui ne font pas intervenir de détermination/mesure de la radioactivité, mais dont le résultat peut être influencé par la radioactivité.

2.1. Termes et définitions

Le guide s'appuie sur les concepts développés dans le guideline ICH Q2 (R1), que reprend également, dans sa section Validation analytique, le Guide technique pour l'élaboration des monographies d'application générale.

2.1.1. Introduction

Le présent document traite des paramètres à considérer pour la validation des procédures analytiques dans le cadre de l'élaboration des monographies ; il peut également constituer un guide utile dans le cadre de l'enregistrement. La validation d'une procédure analytique a pour objectif de démontrer que cette procédure est appropriée à l'usage qui en est prévu.

Un résumé des paramètres pertinents, selon que la validation porte sur une identification, sur un essai de pureté ou sur un dosage, est fourni plus loin sous la forme d'un tableau, dans lequel l'accent est mis en particulier sur la détermination et la détection de la radioactivité.

2.1.2. Différents types de procédures analytiques

Les types les plus courants de procédures analytiques considérés ici sont les suivants :

- essais d'identification,
- détermination quantitative de teneurs en impuretés,
- essais limites pour le contrôle des impuretés,
- essais quantitatifs de détermination de la radioactivité (équivalent du Dosage dans les monographies de substances chimiques).

Ces différents types d'essais sont brièvement décrits ci-dessous.

- Les essais d'identification ont pour objet de démontrer que le radionucléide sur lequel porte l'essai est le bon, et qu'il est présent sous la forme chimique spécifiée.
- Les essais de pureté radionucléidique visent à apporter des informations sur l'identité et la teneur des impuretés radionucléidiques potentielles et donc sur la pureté radionucléidique globale de la préparation.
- Les essais de pureté radiochimique visent à apporter des informations sur l'identité et la teneur des impuretés radiochimiques potentielles associées à la synthèse ou la préparation de l'entité active du produit fini.
- Les essais portant sur des impuretés non radioactives peuvent être soit des essais quantitatifs soit des essais limites visant les impuretés contenues dans un échantillon. Dans l'un et l'autre cas, l'essai est censé refléter exactement les caractéristiques de pureté de l'échantillon. Les

paramètres de validation à considérer pour un essai quantitatif ou un essai limite sont différents ; ces aspects sont décrits dans le *guideline* ICH Q2 (R1) sur lequel est fondé le présent guide.

- La détermination de la radioactivité (dosage, teneur ou activité) a pour objet la mesure de la radioactivité (nombre de désintégrations par unité de temps) du radionucléide concerné dans l'entité chimique considérée (la substance active). La radioactivité est exprimée en termes de *radioactivité totale* (par exemple par unité de dose – telle qu'une capsule – ou par récipient – tel qu'un flacon) ou de *concentration radioactive* (par unité de volume de la préparation), à une date et une heure données.

2.1.3. Paramètres et exigences de validation

Il est important de bien définir l'objectif de la procédure analytique considérée, car de cet objectif dépendent les paramètres de validation qu'il conviendra d'évaluer. Les paramètres de validation types à considérer sont les suivants :

- exactitude,
- fidélité,
 - répétabilité,
 - fidélité intermédiaire,
- spécificité,
- limite de détection,
- limite de quantification,
- linéarité,
- intervalle (de mesure).

Chacun de ces paramètres de validation est défini dans le glossaire figurant ci-après (section 2.1.4). Le tableau donne la liste des paramètres considérés comme les plus importants pour la validation des différents types de procédures analytiques. Cette liste est à interpréter comme une liste type pour la catégorie de procédures considérée, et les éventuelles exceptions doivent être discutées et justifiées. Il est à noter que la robustesse n'est pas citée ; elle doit néanmoins être prise en compte à une étape appropriée du développement de la procédure analytique.

Par ailleurs, une revalidation peut être nécessaire dans les circonstances suivantes :

- modifications apportées au procédé, par exemple concernant la production du radionucléide, la synthèse du précurseur, la synthèse du composé radioactif, etc.,
- modifications apportées à la composition du produit fini,
- modifications apportées à la procédure analytique.

Le degré de revalidation requis dépend de la nature des modifications intervenues. Certaines autres modifications peuvent également nécessiter une revalidation. La décision relative au degré de revalidation requis est prise selon une approche d'analyse de risque.

Les plans de validation doivent inclure des méthodes utilisées dans le cadre des essais de stabilité pour établir la durée de conservation des produits.

2.1.3.1. Tableau modifié issu du guideline ICH, adapté à la catégorie spécifique des préparations radiopharmaceutiques

Paramètre	Type de procédure analytique						
	Identité du radionucléide (T _{1/2} approx.)	Identité du radionucléide (spectrométrie)	Identité radio-chimique (CL/CCM/CP)	Pureté radionucléidique (essai limite)	Pureté radio-nucléidique (spectrométrie)	Pureté radio-chimique* (CL/CCM/CP)	Radioactivité (dosage)
Exactitude	-	-	-	-	+	+	+
Fidélité							
Répétabilité	+	-	-	-	(+)	(+)	+
Fidélité intermédiaire	-	-	-	-	(+)	(+)	-
Spécificité	+	+	+	+	+	+	+
Limite de détection	-	-	-	+	-	-	-
Limite de quantification	-	-	-	-	+	+	-
Linéarité	+	-	-	-	+	+	+
Intervalle de mesure	+	-	-	-	+	+	+

* Validation analogue pour les essais de pureté radioénantiomérique.

(+) : pas toujours possible (par exemple en cas de période courte, voir texte).

CL = chromatographie liquide ; CCM = chromatographie sur couche mince ; CP = chromatographie sur papier.

2.1.4. Glossaire

Procédure analytique. La procédure analytique est le mode de réalisation d'une analyse. Elle décrit dans le détail les différentes étapes nécessaires à la réalisation de l'analyse : préparation de l'échantillon, de l'étalon de référence et des réactifs, utilisation de l'appareillage, établissement de la courbe d'étalonnage, application des formules de calcul, etc. ; cette liste n'étant pas restrictive.

Spécificité. La spécificité d'une procédure analytique est sa capacité à permettre l'évaluation univoque de la substance à analyser, en présence des autres composés susceptibles de l'accompagner. Ceux-ci comprennent typiquement les impuretés, les produits de dégradation, la matrice, etc.

Le manque de spécificité d'une procédure analytique peut être compensé par le recours à une ou plusieurs autres procédures complémentaires.

Cette définition se traduit, selon les cas, de la façon suivante :

- *identification* : il s'agit d'assurer l'identité de la substance à analyser.
- *essais de pureté* : il s'agit d'assurer que l'ensemble des procédures analytiques appliquées permettent une évaluation exacte de la teneur en impuretés (substances apparentées, impuretés élémentaires, solvants résiduels, etc.).
- *radioactivité* (équivalent du dosage dans les monographies de substances chimiques) : dans le cas des méthodes non spectrométriques de mesure de la radioactivité – par exemple au moyen de chambres d'ionisation, de détecteurs solide (semi-conducteurs ou à scintillation) ou de scintillation liquide –, les détecteurs ne permettent généralement pas de discriminer la totalité des rayonnements émis par les différents radionucléides. De ce fait, l'obtention de résultats fiables nécessite soit l'absence de radionucléides interférents (pureté radionucléidique) soit la connaissance de leur contribution relative aux résultats de mesure.

Exactitude. L'exactitude d'une procédure analytique exprime l'étroitesse de l'accord entre la valeur acceptée comme conventionnellement vraie, ou comme valeur de référence, et la valeur trouvée. Elle est parfois appelée « justesse ».

Fidélité. La fidélité d'une procédure analytique exprime l'étroitesse de l'accord (mesure de la dispersion) entre une série de mesures obtenues à partir de plusieurs prises d'essai provenant d'un même échantillon homogène, dans les conditions prescrites. La fidélité peut être envisagée à 3 niveaux : répétabilité, fidélité intermédiaire et reproductibilité.

La fidélité doit de préférence être évaluée au moyen d'échantillons homogènes authentiques. Cependant, s'il n'est pas possible d'obtenir un échantillon homogène, elle peut être évaluée au moyen d'échantillons préparés artificiellement ou d'une solution échantillon.

La fidélité d'une procédure analytique est, en général, exprimée en termes de variance, d'écart type ou de coefficient de variation d'une série de résultats de mesure.

La *répétabilité* est la fidélité obtenue dans des conditions opératoires identiques et dans un court intervalle de temps. Elle est également appelée « fidélité intraessai ».

La *fidélité intermédiaire* est l'expression de la variabilité intralaboratoire (mesures effectuées à des jours différents, par des analystes différents, avec des équipements différents, etc.).

La *reproductibilité* est l'expression de la variabilité interlaboratoire (études collaboratives, généralement conduites aux fins de standardisation de la méthode).

Limite de détection. La limite de détection d'une procédure analytique donnée est la plus petite quantité de la substance considérée qui peut être détectée dans un échantillon, sans forcément pouvoir être quantifiée de façon exacte.

Limite de quantification. La limite de quantification d'une procédure analytique donnée est la plus petite quantité de la substance considérée qui peut être quantifiée, dans un échantillon, avec une exactitude et une fidélité appropriées. La limite de quantification intervient dans l'analyse quantitative des substances présentes à faible concentration dans des matrices échantillons ; elle est notamment utilisée pour le dosage des impuretés et/ou des produits de dégradation.

Linéarité. La linéarité d'une procédure analytique donnée est sa capacité (à l'intérieur d'un intervalle donné) à fournir des résultats directement proportionnels à la concentration (quantité) de substance présente dans l'échantillon.

Intervalle (de mesure). L'intervalle (de mesure) d'une procédure analytique est l'intervalle (limites inférieure et supérieure incluses) de concentration/quantité de substance à analyser (dans l'échantillon) sur lequel il a été démontré que la procédure possède une fidélité, une exactitude et une linéarité appropriées.

Robustesse. La robustesse d'une procédure analytique est une mesure de sa capacité à ne pas être affectée par des modifications faibles, délibérées, de facteurs associés à la procédure ; elle donne une indication de la fiabilité de la procédure dans les conditions normales d'application.

2.2. Méthodologie

Comme indiqué précédemment, la méthodologie générale de validation est décrite dans le guideline ICH Q2 (R1), « Validation of Analytical procedures », Partie II « Methodology » et n'est pas intégralement redécrite ici. La validation des méthodes utilisées pour l'analyse des préparations radiopharmaceutiques s'effectue également selon les principes décrits dans le guideline ICH Q2 (R1), mais l'approche ICH standard n'est pas toujours applicable, ou nécessite d'être adaptée

parce que les radionucléides se caractérisent par une décroissance dans le temps, les techniques de détermination ne sont pas les mêmes que celles utilisées en chimie analytique classique, et le transport des préparations radioactives pose des difficultés en raison des rayonnements qu'elles émettent. Le présent guide développe principalement ces aspects spécifiques.

2.2.1. Introduction

L'objectif de cette section est de fournir des indications et recommandations sur la façon de considérer les différents paramètres de validation pour chaque procédure analytique. Dans certains cas (par exemple la démonstration de la spécificité), il est possible d'étudier les performances globales de plusieurs procédures analytiques mises en œuvre concurremment pour s'assurer de la qualité de préparation radiopharmaceutique

Il est recommandé de fournir toutes les données pertinentes recueillies en cours de validation et toutes les formules utilisées pour calculer les paramètres de validation.

L'une des conséquences du phénomène de décroissance radioactive est que le volume d'administration requis, dans le cas d'une préparation radiopharmaceutique, varie au cours de la période de validité (durée de conservation). Si l'on opère par préparation extemporanée, ou reconstitution de « kits froids », le volume à administrer peut aller d'une fraction du volume préparé/reconstitué (par exemple quelques millilitres), juste après la préparation/reconstitution, au volume préparé/reconstitué total (par exemple 15 mL ou 20 mL) en fin de durée de conservation. Cette variabilité du volume est toujours à prendre en considération dans la conception des protocoles de validation de procédures analytiques.

D'autres approches que celles proposées dans ce document sont, dans certains cas, applicables et acceptables. Il revient aux experts chargés de l'élaboration de la monographie de choisir la procédure analytique et le protocole de validation les mieux appropriés pour la préparation considérée. Il est toutefois important de se rappeler que l'objectif principal de la validation d'une procédure analytique est de démontrer son adéquation à l'usage qui en est prévu.

Lors des études de validation, il convient d'utiliser des étalons de référence bien caractérisés, de pureté établie. Le degré de pureté requis dépend de l'usage prévu de ces étalons.

Par souci de clarté et de cohérence avec le guideline ICH, les différents paramètres de validation sont ici envisagés successivement. La séquence adoptée reflète le processus de développement et d'évaluation des procédures analytiques.

Dans la pratique, il est généralement possible d'organiser les travaux expérimentaux de façon à pouvoir considérer simultanément les différents paramètres de validation pertinents, afin de parvenir à une évaluation globale et cohérente de la procédure analytique considérée (par exemple spécificité, linéarité, intervalle de mesure, exactitude et fidélité).

2.2.2. Spécificité

Une étude de la spécificité est nécessaire pour la validation des identifications, des essais de pureté et de la détermination de la radioactivité (dosage). Les procédures mises en œuvre pour démontrer la spécificité dépendent du type d'application auquel est destinée la procédure analytique.

Il est parfois impossible de démontrer la spécificité d'une procédure analytique pour une substance donnée (discrimination totale). Dans ce cas, la combinaison de plusieurs méthodes d'analyse est recommandée, pour parvenir au niveau de discrimination voulu.

2.2.2.1. Identification

L'identification doit porter à la fois sur le radionucléide et sur la structure chimique de la molécule ou du complexe. Dans certains cas (risque de confusion, par exemple), le contre-ion doit être également identifié.

Les radionucléides sont identifiés via des caractéristiques physiques, par exemple le spectre de rayonnement gamma. L'équipement utilisé doit être étalonné au moyen d'étalons traçables, en termes d'énergie des rayonnements émis par les radionucléides.

S'il existe d'autres radionucléides (pertinents) possédant des caractéristiques similaires, un essai supplémentaire doit être introduit pour opérer une discrimination entre les radionucléides (par exemple un essai portant sur la période approximative). Pour la période approximative, l'intervalle de temps requis pour la mesure doit être établi.

Dans certains cas, il peut être pertinent d'identifier le radionucléide principal après avoir attendu un temps suffisant pour permettre la décroissance des impuretés radionucléidiques à période courte. Ce temps doit être déterminé.

Pour la confirmation de l'identité de la forme chimique sous laquelle se présente le radionucléide, la validation comporte globalement 2 étapes : il faut démontrer que 1) la forme radiochimique et son homologue non radioactif sont similaires en termes de comportement chimique (séparation en chromatographie liquide ou chromatographie sur couche mince par exemple) et 2) l'homologue non radioactif peut être distingué de substances étroitement apparentées. La validation d'un essai portant sur les structures chimiques suit donc les procédures générales s'appliquant aux substances non radioactives.

Les identifications doivent permettre de discriminer les substances de structure apparentée susceptibles d'être présentes. L'un des moyens de confirmer le pouvoir de discrimination d'une procédure analytique est de procéder parallèlement à une identification positive (éventuellement par comparaison à un étalon de référence connu) sur des échantillons contenant la substance à analyser, et à une identification négative sur des échantillons ne contenant pas cette substance. On peut également appliquer l'essai d'identification à des substances structurellement semblables ou étroitement apparentées à la substance à analyser, pour confirmer la négativité de la réponse. Le choix de ces substances, qui constituent des facteurs d'interférence potentiels, doit reposer sur des critères scientifiquement fondés prenant en considération les interférences potentielles.

2.2.2.2. Radioactivité (dosage) et essais de pureté

Radioactivité : si les impuretés radionucléidiques ont une influence sur la détermination de la teneur du radionucléide principal, cette influence doit être prise en compte.

Pureté radionucléidique : dans le cas des préparations pouvant contenir des impuretés à période longue, il peut être nécessaire d'attendre la décroissance du radionucléide principal pour pouvoir mesurer les impuretés radionucléidiques. La réalisation d'un essai préliminaire pour les radionucléides à période longue est une approche à étudier.

Un procédé de séparation chimique (ou électrochimique) peut être utilisé pour séparer le radionucléide principal d'une impureté radionucléidique, afin de déterminer la teneur de cette impureté.

Pureté radiochimique : il convient de déterminer le temps de rétention (en CL) ou le facteur de retardement (en CCM ou CP) des impuretés attendues.

L'analyse d'un échantillon dopé avec les impuretés permet de démontrer la capacité de la méthode à séparer les impuretés du composé principal. Si les impuretés radiochimiques ne sont pas disponibles sous forme isolée, elles peuvent parfois être générées (par exemple colloïdes, complexes du radionucléide dans d'autres états d'oxydation, etc.) en soumettant la préparation à des traitements divers (exposition à la chaleur ou à l'air, changement de pH, etc.). Les résultats obtenus avec les échantillons ainsi « stressés » peuvent contribuer à démontrer la spécificité.

2.2.3. Linéarité

Radioactivité : comme la radioactivité varie dans le temps, en raison de la décroissance radioactive, il est important d'évaluer la linéarité du détecteur de radioactivité, par exemple pour déterminer la radioactivité totale ou pour effectuer un essai d'identification en déterminant la période approximative. La question de la linéarité de la réponse du détecteur est traitée dans la méthode générale 2.2.66 *Détection et mesure de la radioactivité*.

Pureté radiochimique : en CL, en CCM ou en CP, la linéarité doit être démontrée dans les conditions chromatographiques qui seront utilisées en situation réelle (par exemple débit, cellule à flux continue, réglage du détecteur).

La linéarité d'un détecteur de radioactivité doit être définie sur tout l'intervalle de mesure de la procédure analytique considérée. Il est important d'évaluer l'intervalle de linéarité pour le composé radioactif principal, ainsi que pour les impuretés issues de la voie de synthèse. Dans certains cas justifiés, par exemple lorsque les impuretés ne sont pas disponibles, il est admis de ne vérifier la linéarité que pour le composé principal. L'étude de linéarité doit alors couvrir l'intervalle de linéarité du composé principal et celui des impuretés. S'il a été démontré que la procédure analytique n'a pas d'impact sur les résultats des mesures de radioactivité, la démonstration de la linéarité du détecteur peut être considérée comme suffisante.

On peut obtenir différentes concentrations radioactives soit en diluant l'échantillon radioactif soit en utilisant la décroissance naturelle de la radioactivité entre 2 mesures. Il est généralement approprié d'utiliser 5 concentrations autour de la concentration du composé principal, et 5 concentrations autour de la concentration limite définie pour l'impureté. Dans le cas d'une impureté radioactive, il peut être nécessaire d'utiliser un échantillon dopé avec cette impureté pour établir l'intervalle de linéarité.

La valeur de la radioactivité sur laquelle porte la mesure est calculée à partir de la concentration radioactive au moment de l'étalonnage (avec correction de décroissance et compte tenu, s'il y a lieu, des volumes déposés et des dilutions) ; on établit ensuite le graphe de la surface des pics radioactifs en fonction des valeurs calculées de la radioactivité.

Le coefficient de corrélation obtenu à partir du graphe par analyse de régression linéaire doit être $\geq 0,99$ dans le cas d'une détermination directe de la radioactivité due au composé principal. Si la détermination de la radioactivité est précédée d'une opération chimique (par exemple une séparation chromatographique), ou si elle concerne l'analyse d'une impureté, un coefficient de corrélation moins strict peut être acceptable. Dans certains cas justifiés, il peut être admis d'omettre la démonstration de la linéarité pour la procédure analytique dans son ensemble, la démonstration de la linéarité de réponse du détecteur étant jugée suffisante.

2.2.4. Intervalle de mesure

Identité radionucléidique. Pour la détermination de la période approximative, les valeurs mesurées doivent être comprises dans l'intervalle de linéarité du détecteur.

Radioactivité. Pour la détermination de la radioactivité totale et de la concentration radioactive, les valeurs mesurées doivent être comprises dans l'intervalle de linéarité du détecteur.

Pureté radionucléidique. Le temps de comptage doit être établi de façon à permettre de contrôler la présence des impuretés radionucléidiques potentielles au-dessus de la limite spécifiée. Si l'intervalle à couvrir ne coïncide pas avec l'intervalle de linéarité du détecteur, une approche possible peut être de spécifier 2 intervalles, par exemple l'un avec un temps de comptage étendu permettant la détermination des impuretés radionucléidiques, et l'autre adapté à la détermination de la radioactivité totale, avec un temps de comptage plus court ou une préparation plus diluée.

Pureté radiochimique. L'intervalle de mesure doit être établi en relation avec l'objectif de la mesure et avec la limite spécifiée. Il faut s'assurer qu'il est possible d'analyser les impuretés radiochimiques à une teneur donnée comprise dans l'intervalle de linéarité, avec un temps de comptage suffisant.

L'intervalle doit couvrir au minimum les valeurs de la radioactivité allant de la limite de quantification des impuretés à 120 pour cent de la quantité radioactive maximale injectée/déposée.

2.2.5. Exactitude

2.2.5.1. Radioactivité

L'exactitude doit être établie par comparaison à des préparations de référence étalonnées (traçables) ou à l'aide d'un instrument étalonné.

2.2.5.2. Impuretés radionucléidiques

L'exactitude doit être évaluée sur des échantillons dopés avec des quantités connues des impuretés radionucléidiques potentielles. Si les impuretés radionucléidiques ne sont pas disponibles, on peut opérer au moyen d'un appareil étalonné. Il est nécessaire d'indiquer le temps de comptage requis, afin de disposer de données statistiques sur le comptage (et les résultats).

2.2.5.3. Impuretés radiochimiques

L'évaluation de l'exactitude doit prendre en compte la procédure dans son ensemble, par exemple les étapes de préparation, de séparation, de recouvrement et de mesure de radioactivité.

2.2.5.4. Recommandations sur les données à fournir

Il convient d'évaluer l'exactitude sur la base d'au moins 9 déterminations, avec au minimum 3 concentrations couvrant l'intervalle de mesure spécifié (par exemple 3 concentrations avec 3 replicats pour chaque concentration). Une autre approche peut être suivie lorsque la période est très courte au regard du temps d'analyse, par exemple de mesure d'une série de replicats avec application d'une correction de décroissance.

L'exactitude doit être indiquée en termes de pourcentage de recouvrement d'une quantité connue de radioactivité ajoutée à l'échantillon, ou en termes de différence entre la moyenne obtenue et la valeur conventionnellement vraie, avec les intervalles de confiance correspondants.

2.2.6. Fidélité

Radioactivité et impuretés radionucléidiques : le temps de comptage et les réglages du détecteur requis pour assurer une fidélité suffisante doivent être établis.

2.2.6.1. Répétabilité

Pureté radiochimique : plusieurs répétitions (par exemple 6 injections/dépôts) sont effectuées dans des conditions identiques.

Lorsque la préparation est trop instable pour permettre des injections répétées, il est également possible d'établir la répétabilité, la fidélité intermédiaire et la robustesse en évaluant ces paramètres lors de la validation de l'essai de pureté chimique de la préparation. Ceci permet de valider la préparation de l'échantillon et la chromatographie, et l'on peut admettre que la répétabilité, la fidélité intermédiaire et la robustesse de la radiodétection ont été établies. Si aucun essai de pureté chimique n'est utilisé, il est possible d'évaluer ces paramètres en utilisant différents marqueurs.

2.2.6.2. Fidélité intermédiaire

L'ampleur des études à effectuer pour évaluer la fidélité intermédiaire dépend des circonstances dans lesquelles il est prévu d'appliquer la procédure analytique. Il convient d'évaluer l'effet de différents événements aléatoires sur la fidélité de la procédure. Les facteurs de variation types à étudier comprennent les variations d'un jour à un autre, d'un analyste à un autre, d'un équipement à un autre, etc. Il n'est pas nécessaire d'étudier individuellement ces effets. L'emploi d'un plan d'expérience (matrice) est conseillé.

2.2.6.3. Reproductibilité

La reproductibilité est évaluée au moyen d'une étude interlaboratoire. Ce paramètre est à considérer pour la standardisation des procédures analytiques. Son évaluation peut être réalisée par analyse de 2 sous-échantillons par 2 laboratoires différents d'un même site (par exemple le laboratoire de contrôle qualité et le laboratoire de développement), par exemple lorsque l'envoi d'un échantillon à un laboratoire plus lointain est impossible.

2.2.6.4. Recommandations sur les données à fournir

Pour chaque type de fidélité étudié, il convient d'indiquer l'écart type, l'écart type relatif (coefficient de variation) et l'intervalle de confiance.

2.2.7. Limite de détection

2.2.7.1. Utilisation d'un logiciel qualifié

Si un logiciel qualifié est utilisé pour la détection et la quantification des radioisotopes, il peut également être utilisé pour déterminer la limite de détection (LD).

En l'absence de logiciel qualifié, plusieurs approches sont possibles pour déterminer la limite de détection, selon que la méthode considérée est instrumentale ou non. D'autres approches que celles décrites ci-dessous peuvent être applicables.

2.2.7.2. Evaluation visuelle

Une évaluation visuelle peut être utilisée pour les méthodes non instrumentales, mais également pour les méthodes instrumentales.

On établit la limite de détection par analyse d'échantillons contenant la substance à des concentrations connues, puis détermination de la concentration minimale à laquelle une détection fiable de la substance est possible.

2.2.7.3. Méthode de l'écart type du blanc

On mesure la réponse correspondant au « bruit de fond » analytique en analysant un nombre approprié d'échantillons à blanc et en calculant l'écart type des réponses¹. On a alors :

$$LD = X_b + 3S_b$$

X_b = signal obtenu pour le blanc,

S_b = écart type du signal obtenu pour le blanc.

2.2.7.4. Méthode du rapport signal/bruit

Cette approche n'est applicable qu'aux procédures analytiques caractérisées par une ligne de base bruitée. On détermine le rapport signal/bruit par comparaison des signaux respectivement mesurés avec des échantillons contenant la substance à des concentrations (faibles) connues et avec des blancs, puis on établit la concentration minimale à laquelle une détection fiable de la substance est possible. Un rapport signal/bruit de 3:1 à 2:1 est généralement acceptable.

2.2.7.5. Recommandations sur les données à fournir

Il convient d'indiquer la limite de détection et la méthode utilisée pour la déterminer.

Lorsque l'estimation de la limite de détection est obtenue par calcul ou par extrapolation, cette estimation peut être ensuite validée par analyse indépendante d'un nombre approprié d'échantillons de concentration égale à la limite de détection ou voisine de cette limite.

2.2.8. Limite de quantification

2.2.8.1. Utilisation d'un logiciel qualifié

Si un logiciel qualifié est utilisé pour la détection et la quantification des radioisotopes, il peut également être utilisé pour déterminer la limite de quantification (LQ).

En l'absence de logiciel qualifié, plusieurs approches sont possibles pour déterminer la limite de quantification, selon que la méthode considérée est instrumentale ou non. D'autres approches que celles décrites ci-dessous peuvent être applicables.

2.2.8.2. Evaluation visuelle

Une évaluation visuelle peut être utilisée pour les méthodes non instrumentales, mais également pour les méthodes instrumentales.

On établit la limite de quantification par analyse d'échantillons contenant la substance à des concentrations connues, puis détermination de la concentration minimale à laquelle une quantification fiable est possible.

2.2.8.3. Méthode de l'écart type du blanc

On mesure la réponse correspondant au « bruit de fond » analytique en analysant un nombre approprié d'échantillons à blanc et en calculant l'écart type des réponses obtenues. On a alors :

$$LQ = X_b + 10S_b$$

X_b = signal obtenu pour le blanc,

S_b = écart type du signal obtenu pour le blanc.

¹ Ceci est une simplification de l'analyse statistique décrite, par exemple, par James N. Miller et Jane C. Miller. *Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry*, chapitre/section 5.7 Limits of detection ; Pearson Education Limited, sixième édition, 2010.

2.2.8.4. Méthode du rapport signal/bruit

Cette approche n'est applicable qu'aux procédures analytiques caractérisées par une ligne de base bruitée. On détermine le rapport signal/bruit par comparaison des signaux respectivement mesurés avec des échantillons contenant la substance à des concentrations (faibles) connues et avec des blancs, puis on établit la concentration minimale à laquelle une quantification fiable de la substance est possible. Le rapport signal/bruit type est de 10:1.

2.2.8.5. Recommandations sur les données à fournir

Il convient d'indiquer la limite de quantification et la méthode utilisée pour la déterminer.

L'estimation obtenue doit être validée par analyse d'un nombre approprié d'échantillons de concentration égale à la limite de quantification ou voisine de cette limite.

2.2.9. Robustesse

Une évaluation de la robustesse est à envisager lors de la phase de développement de la procédure analytique. Elle dépend du type de procédure considéré. L'objectif est de démontrer la fiabilité de l'analyse lorsque l'on introduit des variations délibérées de différents paramètres.

Si les mesures sont sensibles aux variations des conditions d'analyse, il convient de maintenir ces conditions constantes ou d'introduire un avertissement dans la description de la procédure. L'évaluation de la robustesse doit notamment conduire à l'établissement d'une série de paramètres de conformité du système (par exemple essai de résolution) permettant de s'assurer que la validité de la procédure analytique est maintenue à chaque application.

Radioactivité et impuretés radionucléidiques. L'évaluation porte sur les facteurs susceptibles d'influencer le résultat (par exemple géométrie, temps de comptage, effets de matrice, blindage).

Pureté radiochimique : L'évaluation porte sur les facteurs qui influencent le résultat (par exemple matériau constitutif de la colonne, débit de la phase mobile, pureté de la phase mobile, proportion des constituants des phases mobiles, plaques, activation des plaques ou non, pH, température, volume déposé, séchage ou non des dépôts, distance de développement). La stabilité des solvants doit être prise en considération.

2.2.10. Vérification de la conformité du système

La vérification de la conformité du système fait partie intégrante de nombreuses procédures analytiques. Les essais effectués reposent sur l'idée que l'équipement, l'électronique, les opérations analytiques et les échantillons à analyser constituent un système global pouvant être évalué comme tel. Les paramètres de conformité du système dépendent du type de procédure analytique sur lequel porte la validation. Voir aussi chapitre général 2.2.46. *Techniques de séparation chromatographique.*

2.3. Application spécifique à des méthodes utilisées dans la Ph. Eur.

Cette section traite d'un certain nombre de points relatifs à la validation de méthodes s'appuyant sur des techniques analytiques spécifiques. Les indications qui y figurent viennent en complément des chapitres généraux de la Ph. Eur. et des exigences de validation précédemment décrites.

2.3.1. Détermination potentiométrique du pH

On effectue cet essai pour vérifier que le pH de la solution est compatible avec la forme chimique souhaitée du radionucléide considéré et qu'il se situe dans les limites physiologiques. Cette

détermination peut être effectuée à l'aide de bandelettes indicatrices (Méthode Ph. Eur. 2.2.4) ou d'un pH-mètre (Méthode Ph. Eur. 2.2.3) . Il est primordial :

- que la fidélité et l'exactitude du résultat concordent avec celles de la limite spécifiée,
- que la méthode sélectionnée soit adaptée à la préparation radiopharmaceutique considérée et qu'il n'y ait aucune interférence (par exemple due à des solvants/une radioactivité élevée dans le cas d'une détermination avec des électrodes, ou à la couleur des solutions/colloïdes dans le cas d'une détermination avec bandelettes indicatrices de pH).

2.3.2. Spectrométrie gamma

La spectrométrie gamma permet d'établir l'identité, la radioactivité et la pureté du radionucléide considéré.

L'utilisation de la spectrométrie gamma requiert un étalonnage approprié de l'équipement, en énergie et en efficacité. Les variables affectant les résultats spectrométriques sont notamment : le type et les dimensions du détecteur utilisé, la géométrie et la composition de l'échantillon, et la géométrie source/détecteur. L'étalonnage des spectromètres gamma est décrit dans le chapitre général 2.2.66. *Détection et mesure de la radioactivité*. Sont détaillés ci-dessous les aspects spécifiques à prendre en compte en plus de l'étalonnage de l'équipement. Les réglages du détecteur et les conditions de comptage sont supposés fixes.

Identité radionucléidique. L'identification du radionucléide est généralement effectuée par comparaison du spectre d'énergie de l'échantillon considéré avec un spectre de référence d'une source étalon du radionucléide ou avec les valeurs tabulées (voir chapitre général 5.7 *Tableau des caractéristiques des radionucléides*) pour le radionucléide principal de la préparation.

- Spécificité. Il faut déterminer s'il existe un risque d'erreur d'identification due à la présence d'autres radionucléides de même énergie ou d'énergie voisine.

Radioactivité. La détermination de la radioactivité est généralement effectuée en comparant la radioactivité de l'échantillon considéré avec la radioactivité certifiée d'un étalon, ou en utilisant un instrument étalonné avec un tel étalon.

- Exactitude. Il convient de l'évaluer par comparaison avec des étalons de référence traçables ou avec des échantillons qui ont été standardisés par des mesures effectuées dans l'équipement étalonné.
- Fidélité. Il convient de l'évaluer par répétition de mesures effectuées avec un échantillon contenant le radionucléide considéré dans l'intervalle d'activité déclaré, dans les conditions de comptage spécifiées.
- Spécificité. Il convient de déterminer si les impuretés radionucléidiques présentes dans la préparation peuvent avoir une influence sur le résultat, afin de déterminer s'il est nécessaire de corriger le résultat pour tenir compte de ces impuretés.
- Linéarité. Il convient de démontrer que la réponse du détecteur est linéaire sur l'intervalle de mesure.
- Intervalle de mesure. L'intervalle de mesure doit couvrir au moins l'intervalle de radioactivité compris entre la limite de quantification et 120 pour cent de la radioactivité maximale détectée. Il est défini sur la base de l'exactitude, de la fidélité et de la linéarité.
- Robustesse. Il convient d'évaluer l'influence de facteurs de variation divers : géométrie source/détecteur, autoatténuation dans la matrice, temps mort, bruit de fond et coïncidence.

Pureté radionucléidique

- Exactitude. Si l'on ne dispose pas d'étalons des impuretés radionucléidiques, l'étalonnage avec une source multiple est également possible (voir chapitre général 2.2.66. *Détection et mesure de la radioactivité*), à condition que l'équipement soit qualifié pour l'intervalle de radioactivité concerné. Il convient d'établir le graphe de la réponse en fonction de l'énergie.
- Fidélité. Comme décrit précédemment sous Radioactivité.
- Spécificité. Il convient de déterminer s'il est possible de détecter toutes les impuretés potentielles dans les conditions de comptage spécifiées, et s'il est nécessaire d'attendre pour effectuer la mesure que la décroissance du radionucléide principal soit suffisante pour permettre la détection des impuretés potentielles.
- Limite de détection (LD)/limite de quantification (LQ) ou activité minimale détectable (AMD). Elles doivent être déterminées dans les conditions spécifiées pour la méthode.
- Linéarité. Comme décrit précédemment sous Radioactivité.
- Intervalle de mesure. L'intervalle de mesure individuel doit couvrir au minimum la radioactivité comprise entre 50 pour cent et 120 pour cent de la limite spécifiée pour l'impureté radionucléidique.
- Robustesse. Comme décrit précédemment sous Radioactivité.

2.3.3. Comptage bêta total et spectrométrie bêta

Le comptage bêta total et la spectrométrie bêta permettent de déterminer l'activité et la pureté radionucléidique des émetteurs bêta purs.

Du fait de la forme continue du spectre bêta, l'identification d'un radionucléide sur une base spectrométrique uniquement ne donne pas forcément un résultat exact. Néanmoins, la détermination de la radioactivité peut être effectuée par séparation appropriée des radionucléides, puis par comptage bêta total. Il est également possible d'obtenir certaines informations en examinant l'énergie moyenne et/ou maximale du spectre bêta et en analysant la variation du taux de comptage bêta en fonction du temps.

Le recours au comptage bêta total et à la spectrométrie bêta nécessite une préparation appropriée de la source, une détermination du rendement de séparation chimique et un étalonnage en l'efficacité de l'équipement. Les variables affectant les résultats spectrométriques sont notamment : le type et les dimensions du détecteur utilisé, la géométrie de l'échantillon, et la géométrie source/détecteur. L'étalonnage des équipements de comptage et de spectrométrie bêta est décrit dans le chapitre général 2.2.66. *Détection et mesure de la radioactivité*. Sont détaillés ci-dessous les aspects spécifiques à prendre en compte en plus de l'étalonnage de l'équipement. Les réglages du détecteur et les conditions de comptage sont supposés fixes.

Identité radionucléidique. Il convient de déterminer la radioactivité du radionucléide considéré en procédant comme suit :

- s'il y a lieu, séparation chimique du radionucléide considéré,
- préparation de sources adaptées au comptage bêta (sources solides en géométrie 2π ou sources à scintillation liquide),
- comptage bêta total ou spectrométrie bêta.

Spécificité. Le risque de confusion avec d'autres radionucléides d'énergie bêta maximale identique ou similaire doit être pris en compte. La spectrométrie gamma ou la détermination de la période approximative apportent des informations complémentaires.

Radioactivité. Comme décrit précédemment sous Spectrométrie gamma.

Pureté radionucléidique. Comme décrit précédemment sous Spectrométrie gamma.

2.3.4. Spectrométrie alpha

Le recours à la spectrométrie alpha nécessite une préparation de la source, une détermination du rendement de la séparation chimique et un étalonnage en efficacité de l'équipement adéquats. Les particules alpha possèdent des énergies élevées, mais sur un faible intervalle. Même lorsque des précautions sont prises pour faciliter la détection des particules alpha, il peut être difficile de détecter les énergies des particules alpha correspondant aux valeurs décrites dans la littérature.

L'étalonnage de l'équipement pour le comptage alpha et la spectrométrie alpha est décrit dans le chapitre général 2.2.66. *Détection et mesure de la radioactivité*. Sont détaillés ci-dessous les aspects spécifiques à prendre en compte en plus de l'étalonnage de l'équipement. Les réglages du détecteur et les conditions de comptage sont supposés fixes.

Lors de la mesure d'échantillons de référence pour estimer le facteur d'étalonnage, on doit s'assurer que l'échantillon de référence ressemble à l'échantillon inconnu. Les échantillons doivent être secs et contenir un minimum de résidus solides pour limiter les effets de matrice. Des variations de ces paramètres peuvent influencer l'atténuation des particules alpha et l'absorption d'énergie dans la matrice et, par conséquent, diminuer l'exactitude du spectre d'énergie alpha.

Limites de détection et de quantification. En spectrométrie alpha, les limites de détection et de quantification dépendent du détecteur, de la position de l'échantillon utilisé et de la durée d'analyse. Le logiciel du détecteur de particules alpha peut, sur un système de détection étalonné, utiliser les énergies des particules alpha détectées pour estimer le ou les radionucléides probablement présents dans l'échantillon et leur radioactivité (en becquerels). Toutefois, en raison des effets de matrice, il convient d'étudier et d'interpréter la fiabilité de ces estimations logicielles. Pour les spectres d'énergie complexes émetteurs alpha avec des énergies d'émission alpha multiples, les résultats doivent être analysés par des analystes expérimentés. La limite de quantification réelle dépend de la complexité du spectre obtenu et doit être déterminée au cas par cas.

Identité radionucléidique. Il convient de déterminer la radioactivité du radionucléide considéré en procédant comme suit :

- s'il y a lieu, séparation chimique du radionucléide considéré,
- préparation de sources adaptées au comptage alpha,
- spectrométrie alpha.

Radioactivité. Comme décrit précédemment sous Spectrométrie gamma.

Pureté radionucléidique. Comme décrit précédemment sous Spectrométrie gamma.

La plupart des émetteurs alpha donnent des éléments fils émetteurs gamma. En raison de la complexité de la spectrométrie alpha, il est recommandé d'utiliser la spectrométrie gamma et de réaliser des mesures indirectes pour déterminer l'identité, la pureté et la radioactivité du radionucléide. Les méthodes doivent être validées en conséquence.

2.3.5. Techniques de séparation

Les différentes procédures chromatographiques (CCM, CP et CL) peuvent être utilisées pour identifier et quantifier les impuretés. Elles doivent être validées selon les principes généraux déjà décrits, mais certains aspects propres à chacune d'elles sont également à considérer lors de la préparation de protocoles.

Ces aspects spécifiques sont les suivants.

Elution complète : CL contre CCM/CP

Pour le développement/la validation d'un essai de pureté radiochimique, il doit être démontré que, lorsque l'on utilise une CL, tous les composés radiochimiques sont élués de la colonne.

Pour ce faire, il est possible de mesurer l'activité sur la colonne une fois la procédure chromatographique terminée (dans le cas d'émetteurs gamma) ou de comparer la radioactivité injectée et éluee (par le calcul) dans les cas où le rayonnement ne traverse pas la paroi de la colonne. Ceci n'est pas nécessaire avec la CCM, car la radioactivité reste sur la plaque ; on détermine donc la radioactivité sur l'intégralité de la plaque. Il convient toutefois de tenir compte de la génération éventuelle d'impuretés radioactives volatiles, au vu des données relatives à la voie de synthèse.

Séparation

Contrairement à la plupart des applications de CCM classiques, dans lesquelles les plaques sont inspectées visuellement, la distribution de la radioactivité sur la plaque de CCM est déterminée à l'aide d'un détecteur de radioactivité. La représentation graphique qui en résulte est similaire à celle d'un chromatogramme obtenu par CL. En CCM et en CL, il est préférable d'obtenir une séparation des pics jusqu'à la ligne de base. Il convient de développer, et de tester lors de la validation, un essai de conformité du système reposant sur la résolution. S'il est impossible d'obtenir une séparation jusqu'à la ligne de base, un rapport pic/vallée peut être défini comme critère de conformité. Pour les CCM utilisées uniquement aux fins d'identification des radiopharmaceutiques, aucun essai de conformité du système n'est prescrit dans la monographie. Il convient cependant de démontrer, pendant le développement de l'essai, que la méthode permet bien de distinguer des substances apparentées (par exemple matière de départ et composé final).

Quantification par intégration

Bien que la majorité des essais de pureté radiochimique soient des essais limites (comparaison avec la surface d'un autre pic) et que les pics doivent être intégrés pour permettre la comparaison de la surface du pic à celle d'un pic de référence, certains aspects de la validation des essais de détermination quantitative des impuretés s'appliquent, par exemple les limites de détection/quantification et la linéarité.

Il convient de sélectionner avec soin la valeur de radioactivité à laquelle est déterminée la pureté radiochimique, afin de ne pas dépasser la linéarité du détecteur aux niveaux de radioactivité élevés et de limiter l'influence du bruit de fond aux niveaux de radioactivité très faibles (rapport signal/bruit).

Il est recommandé de décrire les paramètres/méthodes d'intégration, particulièrement en l'absence de séparation jusqu'à la ligne de base des pics, afin de s'assurer que les valeurs assignées aux pics sont correctes (par exemple un pic à la traînée d'un autre pic). Les paramètres d'intégration peuvent être validés par interprétation/intégration indépendante du même chromatogramme par différents analystes.

Avant intégration, il convient d'étudier les chromatogrammes obtenus par des méthodes d'analyse validées afin de déceler d'éventuelles irrégularités, car les performances effectives de l'essai peuvent être influencées par des facteurs de variation propres à l'essai.

Il est préférable de balayer les chromatogrammes de CCM et de déterminer les surfaces de pics par intégration. Le découpage des chromatogrammes en bandelettes est jugé obsolète et doit être évité.

Utilisation d'un détecteur approprié

Pendant le développement de l'essai de pureté radiochimique, il convient de choisir un détecteur approprié. Il peut être nécessaire d'utiliser différents types de détecteurs pour différents radionucléides.

Pour chaque système, la linéarité des détecteurs ainsi que la LD/LQ doivent être déterminées (voir chapitre général 2.2.66. *Détection et mesure de la radioactivité*).

Bruit de fond

Il convient de s'assurer que, pendant l'analyse de la préparation radiopharmaceutique, les conditions environnementales sont similaires aux conditions de validation de l'essai. Par exemple, une différence de signal de fond peut nuire à la sensibilité de la méthode.

2.3.5.1. Chromatographie sur couche mince (2.2.27)

Cette technique chromatographique est largement employée dans la Ph. Eur. pour les identifications (par comparaison à une substance de référence) et pour la limitation des impuretés (avec ou sans substance de référence). Son application à l'analyse quantitative des impuretés exige l'emploi d'un équipement approprié. Dans la plupart des cas, la silice est utilisée comme phase stationnaire, mais on a aussi parfois recours à des phases inversées (gel de silice silanisé, par exemple) ou à base de cellulose. Les caractéristiques suivantes sont néanmoins communes à l'ensemble des techniques de chromatographie sur couche mince, qu'elles soient utilisées pour une identification ou pour un essai des substances apparentées.

- *Spécificité*. Pour les identifications, la CCM n'assure pas à elle seule la spécificité, mais on peut en revanche en attendre une bonne discrimination ; elle doit être complétée par d'autres techniques qui assurent concurremment la spécificité. Celle-ci peut également être insuffisante pour certains essais limites, auquel cas il convient de décrire un ou plusieurs autres essais permettant de contrôler l'impureté ou les impuretés non séparées. Le pouvoir de discrimination doit être établi.
- *Phase stationnaire*. Il faut démontrer que l'essai est réalisable avec des plaques de même type, mais d'origine différente, et éviter si possible les séparations qui ne sont réalisables qu'avec un type particulier de plaque.
- *Traitements*. La procédure d'essai doit décrire clairement les conditions de conservation/préparation (par exemple activation des plaques par préchauffage) du matériel (notamment les plaques de CCM), car elles peuvent influencer sur les performances de l'essai. Le degré de variabilité admissible pour la conservation/préparation des plaques de CCM doit être étudié lors de la validation de la méthode.
- *Essai de conformité du système*. Il est généralement effectué pour vérifier la séparation de 2 substances ayant un temps de migration voisin, la substance proprement dite et une substance proche (couple critique). Il faut démontrer que la séparation de ces substances constitue une garantie de la conformité du système chromatographique. Ce critère de conformité est essentiel dans le cas des essais de pureté radiochimique.

D'autres aspects sont également à documenter lorsqu'une CCM est utilisée pour un essai de pureté radiochimique :

- traitement des taches : développement immédiat, séchage dans un courant d'air chaud, séchage à l'air ;
- limite de détection : lors de l'emploi d'une technique instrumentale quantitative, il convient d'appliquer l'une des méthodes décrites pour le calcul de la limite de détection ; si l'on utilise

une méthode visuelle, il doit être démontré que la quantité correspondant à la limite spécifiée est détectable ;

- limite de quantification, linéarité, intervalle de mesure et répétabilité : des données relatives à ces paramètres sont également nécessaires lorsqu'une procédure de CCM quantitative instrumentale est employée.

2.3.5.2. Chromatographie liquide (2.2.29)

La CL est généralement utilisée pour identifier le composé considéré dans la préparation radiopharmaceutique et pour déterminer la teneur en impuretés. Un certain nombre d'aspects spécifiques à la CL appellent une attention particulière. Certains de ces aspects sont relatifs à l'examen de composés non radioactifs uniquement (par exemple facteurs de réponse).

Identification

Elle est habituellement réalisée par comparaison du temps de rétention du composé radioactif et du temps de rétention de son analogue non radioactif.

- *Spécificité*. Pour les identifications, la CL n'assure pas à elle seule la spécificité, mais on peut en revanche en attendre une bonne discrimination ; elle doit être complétée par d'autres techniques qui assurent concurremment la spécificité. Le pouvoir de discrimination doit être établi et les temps de rétention ou les rétentions relatives des impuretés et de la substance elle-même doivent être enregistrés. Ces informations doivent être fournies pour plusieurs phases stationnaires de même type et de marque différente.

Essais limites

- *Spécificité* :
 - *pouvoir discriminant de la séparation* : il faut démontrer que le système permet une séparation adéquate des impuretés connues et potentielles, par rapport à la substance elle-même et, si possible, entre elles ; les temps de rétention ou les rétentions relatives des impuretés et de la substance elle-même doivent être enregistrés ; ces informations doivent être fournies pour plusieurs phases stationnaires de même type et de marque différente ;
 - *pouvoir discriminant du système de détection* : le choix du détecteur et des conditions de détection employées doit être justifié.
- *Limites de détection et de quantification*. Ces limites doivent être déterminées pour l'étalon externe, qui peut être une dilution de la substance à examiner ou une impureté connue. Lorsqu'un pic correspondant à une impureté est élué à proximité de celui de la substance, notamment si cette impureté est éluée après la substance, les limites de détection et de quantification doivent être déterminées sur cette impureté. On utilise l'une des méthodes de calcul de la limite de détection et de la limite de quantification.
- *Stabilité*. Des données de stabilité doivent être présentées pour établir la durée de conservation des solutions témoins et des solutions à examiner.
- *Recouvrement*. Lorsqu'un procédé d'extraction est employé, une étude de recouvrement doit être effectuée au moyen d'impuretés connues disponibles, dans des conditions optimales, et les résultats doivent être enregistrés. Il doit être démontré que le recouvrement présente une exactitude et une fidélité acceptables.
- *Essai de conformité du système*. Comme décrit précédemment sous CCM. L'emploi du rapport signal/bruit n'est nécessaire que lorsque la limite de détection et la limite spécifiée sont voisines.

Les essais limites doivent être validés selon les indications données précédemment pour la linéarité, la répétabilité et la reproductibilité.

2.3.6. Radioactivité

Les rayonnements émis par un radionucléide sont indépendants de la forme chimique dans laquelle le radionucléide est présent et, dans la plupart des cas, de la présence d'autres substances chimiques dans la préparation. La validation de la mesure de la radioactivité d'une préparation n'est donc pas spécifique à la préparation individuelle en cours de mesure, mais uniquement au radionucléide concerné lorsqu'il est mesuré à l'aide du système proposé pour la mesure de la radioactivité (préparation de l'échantillon, instrument, réglages de l'instrument, géométrie, temps de comptage, etc.). Partant de cette hypothèse, il est inutile de procéder à la validation de la mesure de la radioactivité pour chaque préparation, mais il est nécessaire de le faire pour chaque radionucléide mesuré comme proposé. Seule exception à ce principe, la nécessité de valider le système de mesure proposé pour la préparation individuelle en tenant compte de l'impact éventuel de potentielles impuretés radionucléidiques susceptibles d'interférer dans la mesure, car ces dernières dépendent du procédé de production du radionucléide considéré. Dans certains cas, l'interférence potentielle d'autres substances présentes dans la préparation peut être spécifique à la préparation et doit également être prise en compte (par exemple la présence de substances induisant une atténuation avec des détecteurs à scintillation liquide).

La mesure de la radioactivité est, en pratique, effectuée à l'aide d'étalons de référence traçables ou d'instruments de mesure étalonnés au moyen d'étalons appropriés au(x) radionucléide(s) à mesurer. Comme la radioactivité évolue au fil du temps, une correction de décroissance doit être appliquée à toutes les mesures.

Si la mesure est effectuée avec un étalon de référence traçable, il convient d'en justifier l'adéquation au radionucléide et aux niveaux de radioactivité visés.

Si la mesure est effectuée avec un instrument étalonné par le fabricant, il incombe à l'utilisateur de se renseigner sur les procédures et sur les résultats d'étalonnage, de manière à déterminer si l'instrument est adapté à la ou aux mesures considérées.

Si l'étalonnage est réalisé en interne par l'utilisateur, celui-ci doit justifier l'adéquation de la procédure d'étalonnage et en consigner les résultats.

Lors de l'utilisation d'une chambre d'ionisation, il est recommandé de tenir compte du délai de réponse nécessaire pour obtenir une mesure stable sur l'intervalle de radioactivité établi.

Les mesures de radioactivité réalisées avec des détecteurs solides sont particulièrement sensibles à la géométrie de comptage. La plupart de ces compteurs sont étalonnés en énergie afin de permettre à l'utilisateur de sélectionner une fenêtre d'énergie adaptée au radionucléide considéré. Il convient d'établir les temps de comptage nécessaires pour obtenir des mesures fiables pour le radionucléide considéré sur tout l'intervalle de radioactivité établi.

Exactitude. Elle doit être établie sur tout l'intervalle de mesure de la méthode de dosage. Si l'instrument n'est pas étalonné pour le radionucléide considéré, il convient d'établir l'exactitude en utilisant des étalons de référence traçables.

Fidélité :

- *Répétabilité (fidélité intraessai).* Elle doit être établie par répétition de la mesure sur des échantillons dans les mêmes conditions opérationnelles et sur un intervalle de temps court par rapport à la période du radionucléide.
- *Fidélité intermédiaire (fidélité intralaboratoire).* Elle peut être établie par mesure d'un échantillon avec différents instruments (sous réserve de disponibilité), par différents analystes et sur un intervalle de temps suffisamment long pour permettre des variations aléatoires, mais suffisamment court par rapport à la période du radionucléide.

Spécificité. La fiabilité de la mesure de la radioactivité nécessite que les essais de pureté radionucléidiques aient exclu la présence de toute impureté radionucléidique potentielle en quantité significative, sauf si la contribution de ces impuretés est connue.

Linéarité. Voir chapitre général 2.2.66. Détection et mesure de la radioactivité.

Intervalle de mesure. Il est établi sur la base des résultats de linéarité, d'exactitude et de fidélité.

www.edqm.eu

Le Conseil de l'Europe est la principale organisation de défense des droits de l'homme du continent. Il comprend 47 États membres, dont tous les membres de l'Union européenne. La Direction européenne de la qualité du médicament et soins de santé (EDQM) est une direction du Conseil de l'Europe qui a pour mission de contribuer au droit essentiel des êtres humains d'avoir accès à des médicaments et des soins de santé de bonne qualité, ainsi que de promouvoir et de protéger la santé publique.