



HAL
open science

Développement de médicaments radiopharmaceutiques pour l'évaluation fonctionnelle pulmonaire en tomographie par émission de positons

Frédérique Blanc-Béguin

► **To cite this version:**

Frédérique Blanc-Béguin. Développement de médicaments radiopharmaceutiques pour l'évaluation fonctionnelle pulmonaire en tomographie par émission de positons. Médecine humaine et pathologie. Université de Bretagne occidentale - Brest, 2022. Français. NNT : 2022BRES0100 . tel-04093962

HAL Id: tel-04093962

<https://theses.hal.science/tel-04093962>

Submitted on 10 May 2023

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

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

THESE DE DOCTORAT DE

L'UNIVERSITE
DE BRETAGNE OCCIDENTALE

ECOLE DOCTORALE N° 605

Biologie Santé

Spécialité : *Médecine Nucléaire et Radiopharmaceutique*

Par

Frédérique BLANC-BÉGUIN

**Développement de médicaments radiopharmaceutiques
pour l'évaluation fonctionnelle pulmonaire en tomographie
par émission de positons**

Thèse présentée et soutenue à Brest le 9 décembre 2022

Unité de recherche : **UMR 1304 GETBO**

Rapporteurs avant soutenance :

Nicolas ARLICOT Professeur, Université de Tours

Mickaël BOURGEOIS Professeur, Université de Nantes

Composition du jury :

Directeur de thèse : **Pierre Yves LE ROUX** Professeur, Université de Bretagne Occidentale

Co-directeur de thèse : **Pierre Yves SALAUN** Professeur, Université de Bretagne Occidentale

Président du Jury : **Mickaël BOURGEOIS** Professeur, Université de Nantes

Examineurs : **Isabelle QUELVEN-BERTIN** Maître de conférences, Université de Toulouse

Cécile TROMEUR Professeur, Université de Bretagne Occidentale

Nicolas ARLICOT Professeur, Université de Tours

Invités : **Raphaël TRIPIER** Professeur, Université de Bretagne Occidentale

Franck LACOEUILLE Professeur, Université d'Angers

Remerciements

Ce travail de thèse a été réalisé au sein du Groupe d'Etude de la Thrombose de Bretagne Occidentale (GETBO) INSERM UMR 1304 et du service de médecine nucléaire du CHRU de Brest.

A Monsieur Pierre-Yves Le Roux,

Professeur à l'Université de Bretagne Occidentale et Praticien Hospitalier dans le service de Médecine Nucléaire de Brest. Je voudrais te remercier de m'avoir donné l'opportunité de travailler sur ce sujet mais également de m'avoir permis de valoriser le travail réalisé, par cette thèse. J'ai beaucoup appris tout au long de ces quatre années.

A Monsieur Pierre-Yves Salaün,

Professeur à l'Université de Bretagne Occidentale et chef du service de Médecine Nucléaire de Brest. Je tiens à te remercier pour ta confiance et tout ce que tu as pu m'enseigner durant ces 19 années passées en médecine nucléaire. Merci également de m'avoir permis d'aller au bout de ce projet de thèse qui avait beaucoup d'importance pour moi.

A Monsieur Mickaël Bourgeois,

Professeur à l'Université de Nantes et radiopharmacien du GIP ARRONAX. Je tiens à te remercier de m'avoir fait l'honneur d'accepter d'être rapporteur de ce travail.

A Monsieur Nicolat Arlicot,

Professeur à l'université de Tours, Radiopharmacien, Praticien Hospitalier à Tours. Je voudrais vous remercier de m'avoir fait l'honneur d'être rapporteur de ce travail.

A Madame Isabelle Quelven-Berthier,

Maitre de Conférence à l'Université de Toulouse, Radiopharmacien, Praticien Hospitalier au CHU de Toulouse. Je tiens à vous remercier de m'avoir fait l'honneur de participer au jury de ce travail.

A Madame Cécile Tromeur,

Professeur à l'Université de Bretagne Occidentale, Praticien Hospitalier dans le service de pneumologie du CHRU de Brest. Je tiens à vous remercier de m'avoir fait l'honneur d'accepter de juger ce travail.

A Monsieur Franck Lacoeylle,

Professeur à l'Université d'Angers, Radiopharmacien et chef du service de Médecine Nucléaire d'Angers. Je tiens à vous remercier de m'avoir fait l'honneur d'accepter de faire partie du comité scientifique indépendant et du jury de ce travail.

A Monsieur Raphaël Tripier,

Professeur à l'Université de Bretagne Occidentale, directeur du laboratoire UMR-CNRS 6521 (CEMCA) à Brest. Je tiens à te remercier pour ton soutien et tes conseils avisés tout au long de ce travail mais aussi plus largement pour tous les échanges que nous avons et qui sont toujours très enrichissants.

A Mme Virginie Cogulet,

Cheffe du pôle Pharmacie du CHRU de Brest, cheffe du service Pharmacie du CHRU de Brest et Praticien Hospitalier dans le service de Pharmacie du CHRU de Brest. Je tiens à te remercier de la confiance que tu m'accordes depuis toutes ces années. Merci également de m'avoir permis de mener de front mon activité de praticien hospitalier en radiopharmacie et mon travail de thèse.

A Valérie et Marie-Noëlle,

Votre soutien, vos encouragements et votre aide m'ont été essentiels tout au long de ces quatre années et bien au-delà. Je vous en remercie profondément.

A David,

Ton partage de connaissances ainsi que ton aide logistique m'ont été précieux. Merci.

A Vous Tous,

Médecins, manipulateurs, physiciens, pharmacien, cadres, secrétaires et agents, qui faites le service de Médecine Nucléaire de Brest dans lequel je grandis depuis 19 ans. A vous tous qui m'avez soutenue consciemment ou inconsciemment durant ces quatre années. Je tiens à vous remercier et vous dire que c'est un réel plaisir de travailler à vos côtés.

A tous mes amis,

Vous êtes toujours là, pour les bons comme les moins bons moments. Merci.

A mes parents,

Sans vous, je ne serai pas la même personne. Merci

A Grégory, Arthur, Hugo et Ambre,

Votre soutien, votre patience et vos encouragements m'ont portée tout au long de ces quatre ans. J'ai beaucoup de chance de vous avoir. La fierté dans vos yeux est ma plus belle récompense...

Sommaire

INTRODUCTION	10
ETAT DE L'ART	13
I. Rappels anatomiques.....	14
II. Les avantages de la technologie TEP par rapport à la scintigraphie.....	17
III. Les marqueurs de l'imagerie nucléaire pulmonaire	19
A. Le technétium-99m (scintigraphie)	19
B. Le gallium-68 (TEP).....	21
C. En synthèse.....	23
IV. Les médicaments radiopharmaceutiques de la perfusion.....	24
A. Le vecteur : les macroagrégats d'albumine.....	24
B. Scintigraphie de perfusion pulmonaire : les [^{99m} Tc]Tc-MAA	30
C. TEP de perfusion pulmonaire : les [⁶⁸ Ga]Ga-MAA.....	38
V. Les médicaments radiopharmaceutiques de la ventilation.....	57
A. La scintigraphie de ventilation pulmonaire : l'aérosol de ^{99m} Tc-nanoparticules de carbone	57
B. La TEP de ventilation pulmonaire : l'aérosol de ⁶⁸ Ga-nanoparticules de carbone.....	67
VI. La dosimétrie de l'imagerie nucléaire pulmonaire	74
A. La dosimétrie patient	74
B. La dosimétrie des travailleurs	75
C. En synthèse.....	76
VII. Conclusion générale et objectifs.....	78
PARTIE EXPERIMENTALE.....	80
Introduction :.....	81
La transition de la scintigraphie pulmonaire à la TEP pulmonaire : intérêt et enjeux.....	81
Chapitre I :.....	85
Mise au point du marquage automatisé des MAA au ⁶⁸ Ga et des contrôles du produit fini.....	85
I. Introduction	86
II. Mise au point du procédé de synthèse des [⁶⁸ Ga]Ga-MAA	87
A. Matériel et méthodes : les bases	87
B. Mise au point de la synthèse automatisée sans purification des MAA marqués	88
C. Mise au point du procédé de purification des [⁶⁸ Ga]Ga-MAA	95
D. Optimisation de la synthèse automatisée pour utilisation en routine clinique.....	109

E.	Séquence de synthèse pour la production de [⁶⁸ Ga]Ga-MAA en routine clinique	114
III.	Validation du procédé de synthèse des [⁶⁸ Ga]Ga-MAA automatisé pour utilisation en routine clinique	115
A.	Contrôles utilisés uniquement pour la validation du procédé	115
B.	Les contrôles qualité du produit fini utilisés en routine	127
C.	Reproductibilité et fiabilité du procédé	141
IV.	Discussion - conclusion	142
Chapitre II :		149
CARACTERISATION DES ⁶⁸ Ga-NANOPARTICULES DE CARBONE AEROSOLISEES ET COMPARAISON AUX ^{99m} Tc-NANOPARTICULES DE CARBONE AEROSOLISEES		149
I.	Introduction	150
II.	Matériels et méthodes.....	151
A.	Production des nanoparticules de carbone aérosolisées.....	151
B.	Prélèvement des échantillons	152
C.	Analyse des prélèvements.....	155
III.	Résultats.....	158
A.	Propriétés physiques des nanoparticules de carbone marquées	158
B.	Composition du produit fini	163
IV.	Discussion	166
V.	Conclusion.....	173
Chapitre III :		176
DOSIMETRIE DU TRAVAILLEUR LORS DE LA REALISATION D'UN TEP/TDM PULMONAIRE AU ⁶⁸ Ga		176
I.	Introduction	177
II.	Matériels et méthodes.....	178
A.	TEP et scintigraphie pulmonaires.....	178
B.	TEP au [¹⁸ F]FDG et au [⁶⁸ Ga]Ga-DOTATOC	180
C.	Matériel de radioprotection.....	181
D.	Mesures des doses d'exposition	181
III.	Résultats.....	183
A.	Dosimétrie liée à la préparation des [⁶⁸ Ga]Ga-MAA	183
B.	Dosimétrie des MERM.....	184
IV.	Discussion	186
V.	Conclusion.....	189
CONCLUSION ET PERSPECTIVES		191
BIBLIOGRAPHIE.....		194
ANNEXE 1: Fully automated ⁶⁸ Ga-labeling and purification of macroaggregated albumin particles for lung perfusion PET imaging.....		200

ANNEXE 2: ⁶⁸ Ga-Labelled Carbon Nanoparticles for Ventilation PET/CT Imaging: Physical Properties Study and Comparison with Technegas®	211
ANNEXE 3: Radiation exposure to nuclear medicine technologists performing a V/Q PET: comparison with conventional V/Q scintigraphy, FDG PET and Ga DOTATOC PET procedures.....	220
ANNEXE 4: Radiopharmaceutical Labelling for Lung Ventilation/Perfusion PET/CT Imaging: A Review of Production and Optimization Processes for Clinical Use	229
ANNEXE 5: Ventilation Scintigraphy With Radiolabeled Carbon Nanoparticulate Aerosol (Technegas)	247

Liste des abréviations

EFR	Explorations Fonctionnelles Respiratoires
TDM	TomoDensitoMétrie
MRP	Médicament RadioPharmaceutique
AMM	Autorisation de Mise sur le Marché
ReS	Résolution Saptiale
DTPA	Diéthylène TriaminePentaAcétate de calcium
IV	Intra Veineuse
MAA	MacroAgrégats d'Albumine
TEMP	Tomographie par Emission MonoPhotonique
TEP	Tomographie par Emission de Positons
MERM	Manipulateur en ElectroRadiologie Medicale
SAH	Sérum Albumine Humaine
NaCl	Chlorure de sodium
HCl	Acide Chlorhydrique
DMSA	Acide DiMercaptoSuccinique
SnCl ₂	Chlorure d'étain
RCP	Résumé des Caractéristiques du Produit
PRC	Pureté Radiochimique
CCM	Chromatographie sur Couche Mince
RPNF	Radioactivité des particules non filtrables
NaI	Iodure de sodium
Tl	Thallium
O ₂	DiOxygène
EP	Embolie Pulmonaire
EPPI	Eau Pour Préparations Injectables
CIPR	Commission Internationale pour la Protection Radiologique
BPP	Bonnes Pratiques de Préparation
DME	Dossier du Médicament Expérimental
ANSM	Agence Nationale de Sécurité du Médicaments et des produits de santé
PSM	Poste de Sécurité Microbiologique
MR	Milieu Réactionnel
RS	Rendement de Synthèse
RSncd	Rendement de Synthèse non corrigé de la décroissance

RScd	Rendement de Synthèse corrigé de la décroissance
AcONH4	Acétate d'ammonium
MeOH	Méthanol
SiO2	Silicate d'oxygène
RF	Rapport Frontal
MEB	Microscopie Electronique à Balayage
EDX	Energie Dispersive de rayons X
ICP-MS-HR	Spectrométrie de Masse à Plasma Inductif Haute Résolution
PRN	Pureté RadioNucléidique
SGPLAT	Service Général des PLAtformes Technologiques
MET	Microscopie Electronique à Transmission
MALDI-TOF	Matrix Assisted Laser Desorption Ionisation/Time Of Flight
IVD	Intraveineux Direct
DO	Dosimètre opérationnel
TLD	Dosimètre ThermoLuminescente
CPM	Coups Par Minute

INTRODUCTION

La scintigraphie pulmonaire est le seul examen permettant une évaluation simultanée des fonctions régionales pulmonaires ventilatoire et perfusionnelle. Elle est basée sur la réalisation d'images consécutive à l'administration de médicaments radiopharmaceutiques (MRP) au patient et est un examen de référence en particulier dans le diagnostic de l'embolie pulmonaire.

L'imagerie de ventilation-perfusion s'est améliorée ces 30 dernières années grâce aux progrès effectués notamment pour l'acquisition des images, leur reconstruction et les techniques d'analyses. En effet, l'arrivée de la tomographie par émission monophotonique (TEMP) a permis d'améliorer la sensibilité, spécificité et reproductibilité de l'examen par rapport à la scintigraphie planaire. Plus récemment, le couplage de la TEMP à des données tomodensitométriques (TDM) a encore amélioré les performances de l'examen en rendant possible la corrélation anatomique des anomalies fonctionnelles (1). Cependant, cet examen reste limité par les conditions techniques inhérentes à l'imagerie monophotonique.

L'avènement de la tomographie par émission de positon (TEP) a permis un développement important de la médecine nucléaire et de l'imagerie métabolique. En effet, du fait des performances techniques plus élevées (meilleure sensibilité de détection, meilleure résolution spatiale et temporelle, possibilité de réaliser des mesures quantitatives), la TEP a supplanté la TEMP dans un nombre important de situations. C'est le cas par exemple, de l'imagerie des tumeurs neuroendocrines exprimant des récepteurs à la somatostatine pour laquelle, l' $[^{111}\text{In}]\text{In}$ -pentétréotide utilisé en TEMP a été remplacé par le $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga}$ -DOTATOC utilisé en TEP (2).

De la même façon, le transfert de l'imagerie pulmonaire de ventilation/perfusion en TEP, offrirait d'importantes perspectives dans de nombreuses applications, notamment pour le diagnostic de l'embolie pulmonaire mais également pour la planification de radiothérapies ou l'évaluation préopératoire lors de la chirurgie des cancers du poumon (1, 3-7). L'imagerie pulmonaire en TEP n'est, néanmoins, quasiment pas pratiquée dans le monde et n'a à ce jour jamais été utilisée en France. Les vecteurs employés pourraient être identiques à ceux de la scintigraphie pulmonaire. Ainsi, les MAA

permettraient de réaliser une TEP de perfusion et la ventilation pourrait être effectuée avec les nanoparticules de carbone qui ont montré leur supériorité en terme de qualité d'examen par rapport à d'autres aérosols. Le radionucléide opportun pour le marquage pourrait être le gallium-68 (^{68}Ga) pour ses propriétés chimiques proches de celles du $^{99\text{m}}\text{Tc}$ et sa disponibilité grâce aux générateurs de ^{68}Ge (germanium-68)/ ^{68}Ga .

Dans ce contexte, l'objet de ce travail de thèse a été de développer les médicaments radiopharmaceutiques qui permettraient de réaliser des TEP/TDM pulmonaires dans le but de favoriser l'implémentation de la TEP pulmonaire dans les services de médecine nucléaire.

Il se décompose en deux grandes parties :

Dans un premier temps, une revue de la littérature reprenant la chimie, la préparation et les données pharmacologiques des MRP de la scintigraphie pulmonaire ainsi que de ceux de la TEP pulmonaire nous permettra de mieux appréhender les différents enjeux de la transition de la scintigraphie vers la TEP. La dosimétrie du patient mais également du personnel étant un sujet relativement anxiogène et non négligeable lors du passage d'émetteurs photoniques de basse énergie vers ceux de haute énergie, une troisième partie regroupera les données dosimétriques disponibles dans la littérature pour chacun des examens, la scintigraphie et la TEP.

Le travail expérimental sera présenté dans une deuxième partie composée des trois études nécessaires pour optimiser et valider la transition des médicaments radiopharmaceutiques de l'évaluation ventilatoire et perfusionnelle pulmonaire de la scintigraphie vers la TEP. La première partie de ce travail s'intéressera à la TEP de perfusion pulmonaire et décrira la mise au point de la préparation, la validation du procédé ainsi que l'établissement des contrôles des $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-MAA}$. La seconde partie sera le pendant de la première pour les ^{68}Ga -nanoparticules de carbone aérosolisées utilisées pour la TEP de ventilation pulmonaire. Enfin, le dernier travail présenté concernera la dosimétrie. Il sera composé de l'étude de poste des radiopharmaciens et des manipulateurs en électroradiologie médicale (MERM).

ETAT DE L'ART

I. Rappels anatomiques

Les poumons sont l'organe central de la respiration dont la fonction principale est l'hématose qui consiste à assurer les transferts de gaz entre la circulation et l'air.

L'arbre ventilatoire est composé de deux zones fonctionnelles : une zone conductive (bouche, nez, trachée, bronche et bronchioles) permettant le passage de l'air et servant de filtre pour l'air inspiré et une zone respiratoire (bronchioles, conduits alvéolaires, sacs alvéolaires) permettant les échanges gazeux grâce à 300 millions d'alvéoles (figure 1).

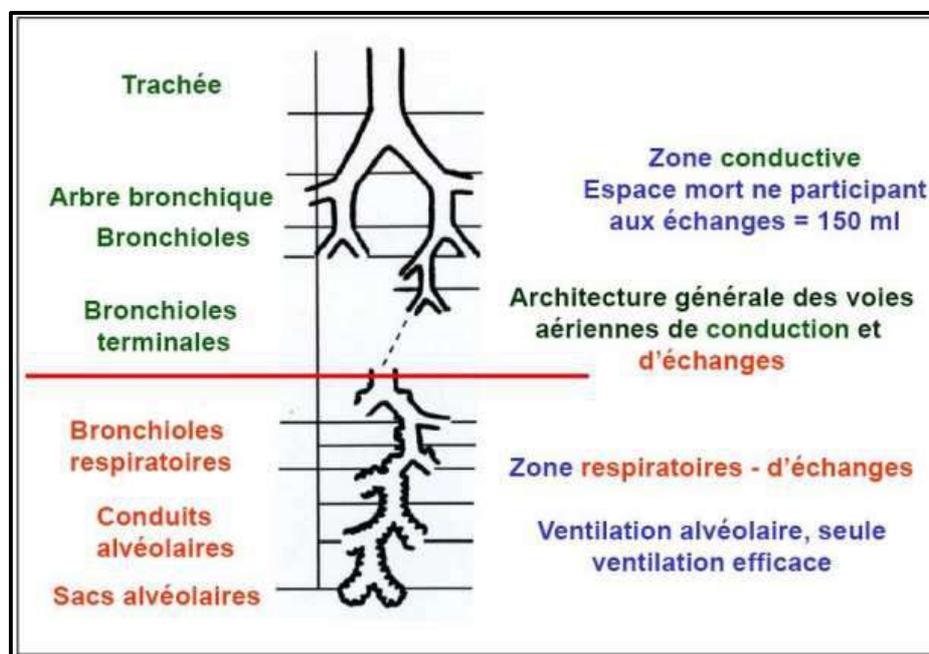


Figure 1 : Zones fonctionnelles pulmonaires (source : pneumocourlancy.fr)

L'arbre bronchique présente 23 générations de division selon le schéma théorique de Weibel. Les bronches vont jusqu'à la 7-8^e division. Au-delà, on parle de bronchioles qui sont divisées en 2 groupes : les bronchioles dont le diamètre est compris entre 0,5 et 1 mm en moyenne (1^{er} groupe) qui se subdivisent en bronchioles dont le diamètre est compris entre 0,15 et 0,2 mm en moyenne (2^e groupe = bronchioles respiratoires) (8). Les bronchioles respiratoires, les conduits alvéolaires et les sacs alvéolaires composent le parenchyme pulmonaire qui conduit l'air et participe aux échanges gazeux

grâce aux capillaires sanguins. La surface alvéolaire d'environ 70 à 80 m² favorise ainsi les échanges gazeux entre les capillaires et l'air alvéolaire (figure 2) (9).

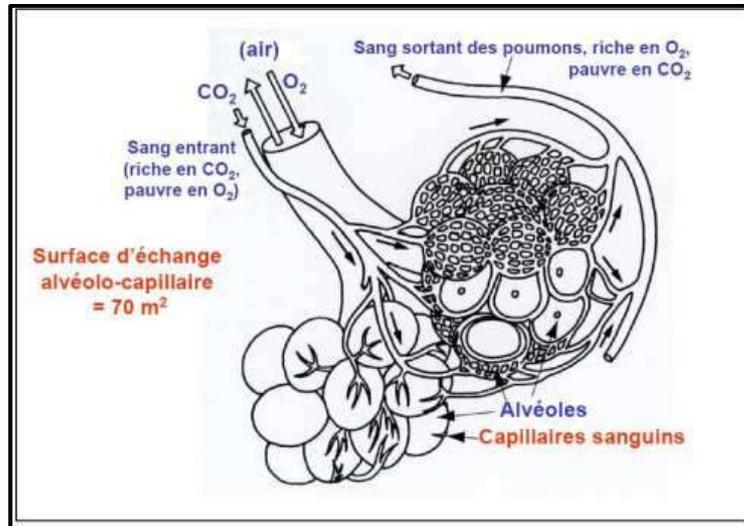


Figure 2 : Schéma des échanges gazeux au niveau alvéolaire

Les capillaires sanguins contribuent à la circulation fonctionnelle pulmonaire appelée également petite circulation. Elle est complétée par le système artériel pulmonaire qui véhicule le sang riche en CO₂ du cœur droit aux poumons et par le système veineux pulmonaire qui achemine le sang oxygéné au cœur gauche.

Par ailleurs les poumons bénéficient d'une circulation nourricière assurée par les artères bronchiques venant de l'aorte et transportant du sang oxygéné et par les veines bronchiques transportant le sang non oxygéné au cœur droit.

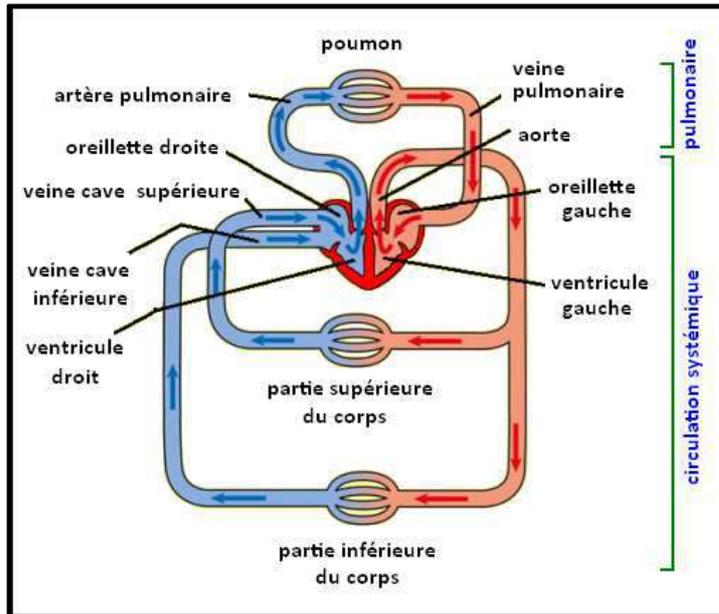


Figure 3 : Circulation sanguine des poumons (source : scientificsentence.net)

II. Les avantages de la technologie TEP par rapport à la scintigraphie

Le passage de la scintigraphie à la TEP ouvre de nouvelles perspectives à l'exploration des fonctions pulmonaires. En effet, la technologie de l'imagerie TEP offre de bien meilleures performances que la TEMP sur l'ensemble des indices définissant la qualité d'une image médicale à savoir, la sensibilité (rapport signal sur bruit), la résolution spatiale et le contraste.

Deux principaux facteurs permettent d'expliquer une meilleure sensibilité ou un meilleur rapport signal sur bruit de la TEP par rapport à la TEMP: la géométrie de détection et l'absence de collimation physique. Concernant la géométrie de détection, les gamma-caméras étant majoritairement composées de deux têtes de détection, l'enregistrement des projections sur 360° nécessite donc un nombre important de positions du couple de détecteurs autour du patient, ce qui limite la durée d'enregistrement par position. A contrario, la géométrie en anneau d'un TEP permet l'enregistrement de tous les angles de projection simultanément et donc d'un plus grand nombre de photons pour un même temps d'acquisition. Par ailleurs, la taille du champ de vue axial des tomographes TEP s'est considérablement allongée (15 cm en 2000 jusqu'à 2 m aujourd'hui) offrant ainsi une capacité de détection proche d'une acquisition sur un angle solide complet (10). Le second facteur, à savoir la collimation, est liée à l'émission des photons sur un angle 4π par les sources de radiation, qui rend nécessaire la sélection des photons selon leur angle d'incidence sur le détecteur. Alors que les gamma-caméras nécessitent un collimateur physique dont les septa en plomb, autorisent la détection d'un faible pourcentage de photons, la détection en coïncidence de la TEP permet elle, de définir l'incidence des photons par la connaissance de la position géographique des deux éléments de détection concernés. La collimation n'est donc plus nécessaire et permet la détection d'un plus grand nombre de photons.

La résolution spatiale (ReS) définie par la plus petite distance permettant de séparer les images de deux points est notablement meilleure en TEP qu'en TEMP. En effet, pour les gamma-caméras, il existe

une relation linéaire entre la distance « source-détecteur » et la ReS, de telle manière qu'une distance « centre du patient-détecteur » de 15 cm correspond à une ReS du système d'environ 15 mm pour un collimateur parallèle basse énergie haute résolution (11). En TEP, la ReS est dépendante des paramètres de reconstruction tomographique, de la taille des éléments de détection, du libre parcours du positon dans la matière avant annihilation, du diamètre de l'anneau et de la configuration des détecteurs. La prise en compte de tous ces facteurs permet d'obtenir des ReS de 3 à 4 mm avec les systèmes actuels.

Concernant le contraste, celui-ci est dépendant de deux facteurs : la diffusion Compton et l'effet de volume partiel. Du fait de l'énergie plus importante des photons en TEP, la diffusion Compton est plus impactante en TEP qu'en TEMP. Cependant, elle est mieux prise en charge en TEP qu'en TEMP aboutissant ainsi à un impact équivalent pour les deux modalités. En revanche, du fait de la moins bonne ReS en TEMP, l'effet de volume partiel y est bien plus important qu'en TEP.

La figure 1 illustre la supériorité de la TEP par rapport à la TEMP tant en terme de sensibilité, résolution spatiale et contraste.

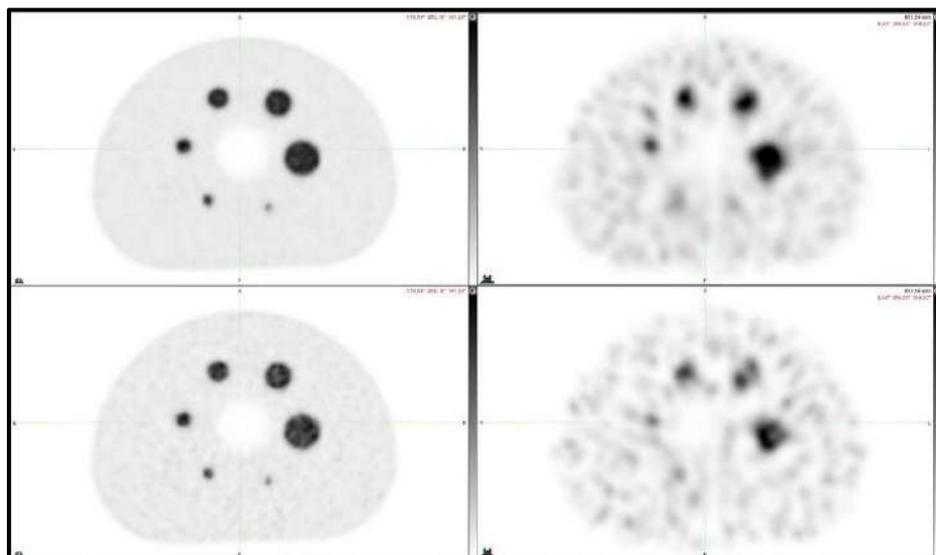


Figure 1 : Acquisition TEP (colonne de gauche) et TEMP (colonne de droite) d'un fantôme composé d'inserts sphériques de tailles décroissantes avec un contraste connu de 4 ou 8 entre les sphères et le fond du fantôme.

Les sphères étaient remplies avec 20 MBq/L et le fond du fantôme avec 2 MBq/L de ^{18}F [FDG] pour les acquisitions TEP et d'un éluat de $^{99\text{m}}\text{Tc}$ pour les acquisitions TEMP. Les temps d'acquisition étaient calqués sur les durées classiques d'acquisition pour la TEMP (10 min, ligne du haut) et pour la TEP (2min30, ligne du bas) pour une longueur couverte de 40 cm.

III. Les marqueurs de l'imagerie nucléaire pulmonaire

A. Le technétium-99m (scintigraphie)

Le technétium-99m (^{99m}Tc) est disponible sous la forme d'un éluat de pertechnétate de sodium ($^{99m}\text{TcO}_4^-$, Na^+) issu d'un générateur de molybdène-99 (^{99}Mo)/ ^{99m}Tc .

Il décroît en technétium-99 (Tc-99) de période égale à $2,13 \times 10^5$ années, en émettant un photon gamma de 140keV (12).

Le technétium (Tc) est un métal de transition artificiel qui appartient au groupe VII du tableau de classification périodique des éléments (12-15). Il s'agit d'un métal gris argent dont le point de fusion est à 2160°C (13). Les propriétés chimiques du Tc sont assez proches de celles du rhénium (Re) du fait de leur appartenance au même groupe du tableau de classification périodique mais également, du fait de leurs rayons atomiques proches en raison de la contraction lanthanidique (14, 15).

Le Tc a 8 états d'oxydation possibles allant de -I à VII (13, 15). Les formes quadrivalentes (Tc(IV)) et heptavalentes (Tc(VII)) sont les plus stables (13). La stabilité des différents états d'oxydation est contrôlée par les spécificités de l'environnement de coordination soit le type d'atome donneur (azote (N), oxygène (O), phosphore (P), soufre (S)) et la conformation de la molécule complexante (= ligand) (13).

Le TcO_4^- (pertechnétate) forme chimique sous laquelle le ^{99m}Tc est obtenu à partir du générateur, est un oxoanion de Tc(VII) (Figure 1) (15). Sachant que les complexes technétiés utilisés pour les applications médicales se trouvent essentiellement dans les états d'oxydation V, III et I selon le chélateur, l'utilisation d'un réducteur est nécessaire pour permettre la formation de ces complexes à partir de l'éluat de ^{99m}Tc (14). Le réducteur le plus communément utilisé dans les trousseaux commerciaux est l'étain (Sn(II)) sous la forme chlorure d'étain (SnCl_2). Les propriétés de réduction des sels stanneux sont optimales en solutions acides. En effet pour des pH supérieurs à 7, la formation

d'étain colloïdal augmente et compromet le marquage. Ils sont donc efficaces dans les trousseaux dont les pH sont compris entre 4 et 7 (14).

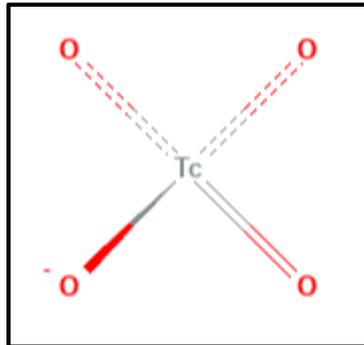


Figure 1 : TcO_4^- , oxoanion de Tc(VII). (source : pubchem)

Pour le marquage au $^{99\text{m}}\text{Tc}$ des biomolécules, le « noyau » technétium le plus fréquemment utilisé est le Tc(V) sous la forme $[\text{Tc}=\text{O}]^{3+}$ (12). En effet, il est très stable en milieu aqueux, en présence de chélateurs forts (figure 2). Différentes approches sont alors possibles dont le marquage direct réalisé en mélangeant la protéine à marquer avec le pertechnétate de sodium et l'agent réducteur. Le Tc réduit interagit alors avec les groupements thiols (SH) des résidus cystéine disponibles sur la protéine. Une seconde approche consiste à conjuguer des groupements thiols sur la protéine (immunoglobine par exemple) par l'action d'un agent thiolatant. Enfin, la dernière possibilité est d'utiliser un chélateur (figure 3) (14, 16).

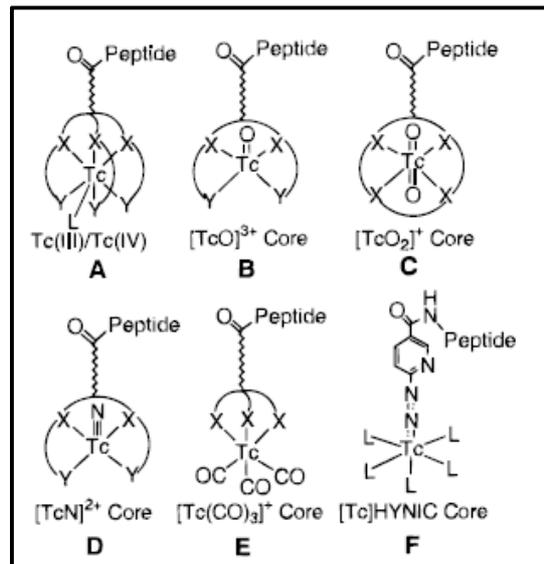


Figure 2 : « Noyaux technétium » les plus fréquemment utilisés pour le marquage des biomolécules au ^{99m}Tc .
D'après Liu et al. *Chem Rev.* 1999.

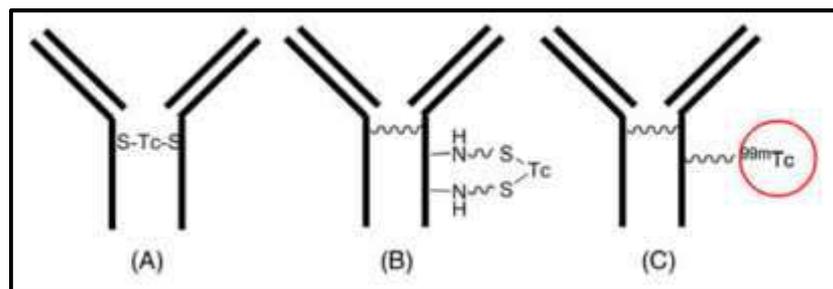


Figure 3 : Marquage des IgG au ^{99m}Tc . (A) : par marquage direct, (B) : via des groupements thiols, (C) : via un chélateur. D'après Papagiannopoulou et al. *J Label Compd Radiopharm.* 2017.

B. Le gallium-68 (TEP)

Le gallium-68 (^{68}Ga) est disponible sous la forme d'un éluat de chlorure de gallium ($^{68}\text{GaCl}_3$) issu d'un générateur de germanium-68 (^{68}Ge)/ ^{68}Ga dans lequel il est à l'état d'oxydation +3. Il décroît avec une période de 67,7 min, à 89% par émission de positon ($E_{\beta^+ \text{max}}$: 1899,01 keV) et 11% par capture électronique. Son radionucléide fils est majoritairement le ^{68}Zn .

Le gallium (Ga) est un métal de post-transition gris argent dont le point de fusion est à 29,76°C.

Le Ga^{3+} est le seul état d'oxydation du Ga stable en solution (17, 18). Du fait de son importante densité de charges positives et de son faible rayon ionique (62 pm), le Ga(III) est considéré comme un acide

fort de Lewis ($pK_a = 2,6$) similairement au fer(III) ($Fe(III)$) dont la charge est identique et le rayon ionique de 65 pm (17-19).

Par ailleurs, la configuration électronique d^{10} du $Ga(III)$ lui permet d'être complexé avec 4, 5 ou préférentiellement 6 liaisons (17, 19). Les complexes les plus stables se font donc avec des chélateurs hexadentates dans une géométrie pseudo-octahédrique (Figure 4) (17-19).

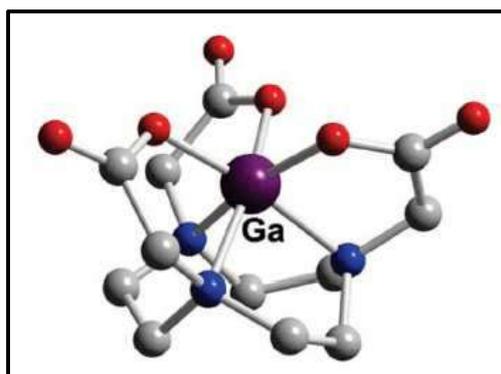


Figure 4: Ga^{3+} complexé par le NOTA avec une configuration pseudo-octahédrique. D'après Wadas et al. *Chem Rev.* 2010.

Le $Ga(III)$ étant un acide fort, il se lie plus facilement avec des bases fortes possédant des atomes donneurs d'électrons comme l'oxygène (O) ou l'azote (N) et dans une moindre mesure le soufre (S) pour donner des complexes stables thermodynamiquement (17-19).

La forme ionique Ga^{3+} n'est stable qu'en milieu très acide, à des pH inférieurs à 3.

Pour des pH compris entre 3 et 7, l'eau agit comme un ligand faible et le Ga s'associe aux groupements hydroxyles pour former majoritairement le complexe insoluble $Ga(OH)_3$. Le Ga n'est alors plus disponible pour les réactions de complexation. A $pH > 7$, le Ga forme l'ion gallate $[Ga(OH)_4]^-$ qui est soluble mais qui ne permet pas au Ga d'être complexé (17, 18).

La complexation du Ga en milieu aqueux nécessite l'utilisation de ligands faibles comme l'acétate ou l'HEPES qui stabilisent le Ga dans sa forme Ga^{3+} et facilitent ainsi la réaction de complexation. Par ailleurs, ils jouent également le rôle de tampon pour les réactions de marquage (17).

Pour une utilisation *in vivo*, les complexes ainsi formés devront être plus stables que le complexe Ga-transferrine pour éviter les réactions de transchélation qui sont favorisées par la forte avidité de la transferrine pour le Ga notamment du fait de la présence de 2 sites de fixation des métaux sur cette protéine (17, 18).

C. En synthèse

Le ^{99m}Tc utilisé pour le marquage des MAA est obtenu sous la forme de $^{99m}\text{TcO}_4^- \text{Na}^+$ à partir d'un générateur commercial de $^{99}\text{Mo}/^{99m}\text{Tc}$.

Le ^{99m}Tc possède 8 états d'oxydation allant de $-I$ à $+VII$. A sa sortie du générateur, le ^{99m}Tc est à l'état d'oxydation $+VII$, forme sous laquelle il ne peut pas être complexé par un vecteur.

L'état d'oxydation le plus communément retrouvé pour la complexation avec des molécules dont les protéines est le Tc(V) sous la forme $(\text{Tc}=\text{O})^{3+}$. Cet état est obtenu après réduction par du Sn(II) contenu dans les trousse commerciales sous la forme SnCl_2 .

Le ^{68}Ga est disponible sous la forme d'un éluat de chlorure de gallium ($^{68}\text{GaCl}_3$) issu d'un générateur de $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$. Il est alors sous la forme $^{68}\text{Ga}^{3+}$, seul état d'oxydation stable en solution à condition de se placer à un $\text{pH} < 3$.

Le $^{68}\text{Ga}^{3+}$ étant un acide fort de Lewis se lie plus facilement avec des bases fortes qui possèdent des atomes donneurs d'électrons comme l'oxygène (O) ou l'azote (N) et dans une moindre mesure le soufre (S). Cependant, sa complexation en milieu aqueux nécessite l'utilisation de ligands faibles comme l'acétate ou l'HEPES qui le stabilisent et facilitent ainsi la réaction de complexation.

Par ailleurs, la transferrine possède une forte affinité pour ce cation pouvant ainsi provoquer des réactions de transchélation *in vivo*.

IV. Les médicaments radiopharmaceutiques de la perfusion

A. Le vecteur : les macroagrégats d'albumine

Les MAA sont des dérivés sanguins préparés à partir de sérualbumine humaine (SAH) qui peuvent être utilisés comme vecteurs aussi bien pour la scintigraphie que pour la TEP de perfusion pulmonaire.

1. La sérum albumine humaine

La sérum albumine humaine est synthétisée dans le foie et exportée dans la circulation sanguine sous la forme d'une seule chaîne dont la structure primaire est constituée de trois domaines homologues nommés I, II, III. Chaque domaine est composé de deux sous-domaines (A et B) liés par une boucle aléatoire (figure 5) (20). Elle atteint des concentrations sanguines avoisinant les $7.0 \times 10^{-4} \text{M}$ (20).

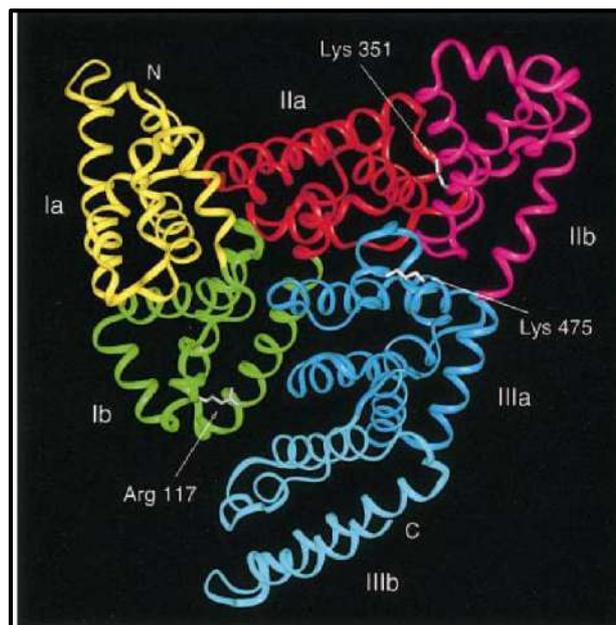


Figure 5: Schéma d'une molécule de SAH. Chaque sous-domaine apparaît dans une couleur différente. D'après Sugio et al. *Protein Engineering*. 1999.

L'albumine est une molécule dynamique dont la structure est influencée par un certain nombre de facteurs physiologiques comme le pH ou la fixation de ligands. Des variations de pH entre 4 et 8 induisent des changements de conformation liés aux mouvements de protons. Ces modifications

entraînent le passage d'une forme neutre (N) (figure 6) pour des pH compris entre 4 et 8 à une forme base (B) de la SAH pour des pH supérieurs à 8, chaque forme ayant des capacités de fixation aux ligands différentes (20, 21).

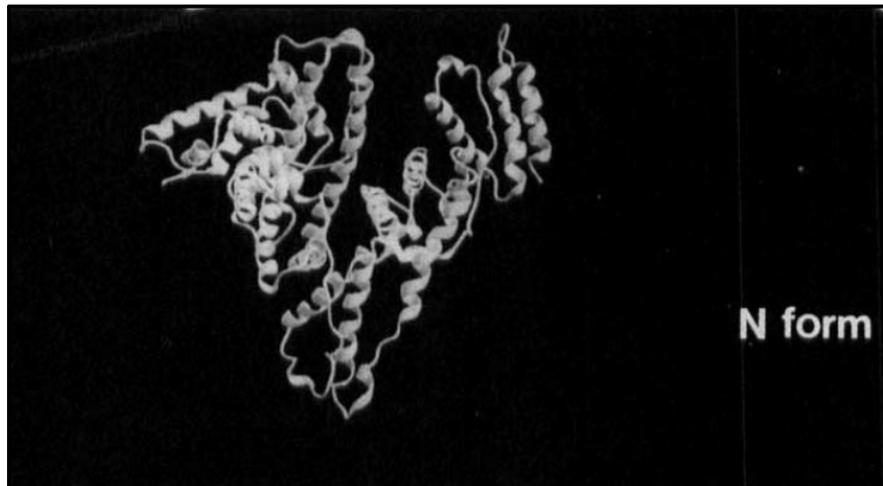


Figure 6 : Représentation de la sérualbumine dans sa forme N en utilisant le programme RIBBONS. D'après Carter et al. *Advances in Protein Chemistry*. 1994.

L'albumine est également une protéine acide, très soluble, stable pour des pH compris entre 4 et 8, soluble dans 40% d'éthanol et pouvant être chauffée à 60°C pendant plus de 10h sans être altérée (22). Ces propriétés ainsi que sa biodégradabilité, ses faibles toxicités et immunogénicités la rendent particulièrement intéressante comme vecteur de principes actifs (22). Par ailleurs, elle est capable de fixer différents ligands notamment une grande variété de composés disponibles dans le plasma en quantités bien supérieures à leur solubilité (20). L'albumine possède également deux sites de fixation pour les métaux (Cys-34 et en N terminal) lui conférant une forte affinité pour certains d'entre eux dont le Cu(II) par exemple (23).

2. Les MAA

Les microparticules sont l'une des formes sous lesquelles l'albumine est utilisée pour vectoriser des principes actifs. Parmi les microparticules d'albumine, les macroagrégats d'albumine sont les plus communs (24).

Les MAA utilisés pour la scintigraphie de perfusion pulmonaire sont préparés à partir de SAH extraite de sang humain (25).

Le point isoélectrique de la sérum albumine humaine est à $\text{pH} = 4,7$. Ainsi, un chauffage à un pH supérieur à 5,1 provoque la formation d'agrégats de taille comprise entre 10 et 50 μm . Un chauffage à une température supérieure à 68°C, est à l'origine de la perte de la configuration en hélice alpha. Une augmentation plus importante de la température de chauffage entraîne la déformation de la poche contenant les groupements thiols (SH) de la cystéine-34 qui sont alors libérés pour former des ponts disulfures intermoléculaires (26). La température de chauffage et le pH sont donc des facteurs clés pour la formation des MAA à partir de la SAH. Par ailleurs, un refroidissement des MAA nouvellement formés à 20°C permet de stabiliser les agrégats en conformation feuillets bêta (26).

D'après Taplin *et al.*, la première technique de préparation des MAA radiomarqués fût décrite en 1963 (27) à partir d'une solution de ^{131}I -sérum albumine humaine à 1% dans du chlorure de sodium (NaCl 0,9%). Après ajustement du pH à 5,7 avec de l'acide chlorhydrique (HCl) 0,2N, la solution a été incubée pendant 20 min dans un bain marie à 75°C sous agitation constante. Après retour à température ambiante et sédimentation des grosses particules, le surnageant a été retiré et remplacé par du NaCl 0,9%. Les particules ainsi obtenues avaient une taille comprise entre 10 et 50 μm . Cependant, environ la moitié de l'I-131 était retrouvée dans le surnageant. Dans l'année qui suivit, quelques modifications furent apportées, notamment au niveau du pH avant chauffage qui fût ramené à 5,5 et de la température de chauffage finalement réglée à 79°C. De plus, une seconde étape de chauffage de 5-10 min permit d'augmenter la taille des particules. Pour autant, l'activité spécifique restait relativement

faible, 10 à 20% de l'albumine marquée n'étaient pas agrégés et la taille des particules était très variable (27).

Avec l'augmentation des marquages utilisant le ^{99m}Tc , différentes équipes ont travaillé à simplifier la méthode de préparation des MAA, à améliorer les rendements de marquage avec le ^{99m}Tc et à resserrer la distribution de taille des particules (28).

Plus récemment, en 2005, Hunt et al. ont utilisé une technique de préparation des MAA permettant d'obtenir une suspension de MAA dont la composition était semblable à celle des trousseaux à marquer au ^{99m}Tc actuellement disponibles sur le marché (25). Pour cela, une solution de SAH à 2% a été préparée à l'aide d'une solution de tampon acétate à pH 5,4 sans oxygène et contenant 5 mg/mL de chlorure stanneux (SnCl_2). La solution a été mélangée vigoureusement pendant 10 min à température ambiante avant d'être chauffée au bain marie à 70°C pendant 10 min sous agitation constante. A la fin de l'étape de chauffage, la suspension a été rapidement ramenée à température ambiante pour stopper la formation d'agrégats. De l'albumine libre a ensuite été ajoutée à la suspension à la concentration finale de 7 mg/mL. Plus de 90% des MAA ainsi préparés avaient une taille comprise entre 10 et 80 μm et aucune particule ne mesurait plus de 150 μm (figures 7 et 8) (25).

En 2016, Jain et al. ont apporté quelques modifications à la méthode de Hunt et al. en utilisant une solution de SAH dans du NaCl 0,9% à 20%, en se plaçant à un pH de 5 et en réalisant une seconde étape de chauffage à 80°C pendant 5 min après le retour à température ambiante qui suivait le premier chauffage (26). Les mêmes auteurs ont également montré que la solution de SnCl_2 présente dès le début de formation des MAA permettait d'augmenter la taille des MAA (26).



Figure 7 : MAA vus au microscope électronique (LEICA DM 1000 LED) (x 100).

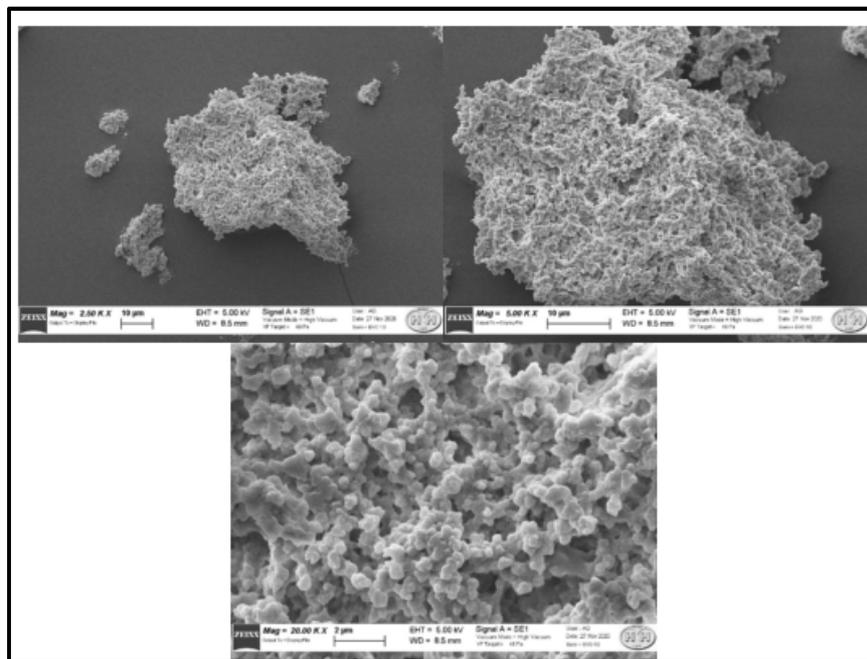


Figure 8 : MAA vus au microscope électronique à balayage. D'après Canziani et al. *Molecules*. 2022

3. En synthèse

La SAH est une protéine stable aux pH compris entre 4 et 8. Elle possède de nombreux sites de fixation pour différents ligands dont les métaux.

En médecine nucléaire, elle est utilisée pour l'imagerie de perfusion pulmonaire sous la forme de MAA.

Les procédés de préparation des MAA décrits dans la littérature diffèrent tous les uns des autres. Cependant, les grandes étapes des méthodes de préparation de microsphère d'albumine sont retrouvées dans chaque procédé rapporté ci-dessus (cf. Tableau1).

En effet, d'après la revue de la littérature de Reza Arshady les particules d'albumine sont la plupart du temps préparées par « suspension crosslinking ». Ce procédé implique la formation de petites particules d'albumine aqueuse dans une phase non miscible, la stabilisation des particules grâce à un agent stabilisateur pour prévenir leur coagulation, la solidification des particules par « self-crosslinking » et la récupération des particules par décantation si leur taille est supérieure à 10 μ m (29).

La réaction de « self-crosslinking » correspond à une réaction directe entre les groupes fonctionnels des chaînes polypeptidiques de l'albumine aboutissant à une liaison covalente entre ces chaînes.

	Etapes de formation des microsphères d'albumine d'après Reza Arshady (29)	Données de procédés de préparation décrits dans la littérature (25-27)
1. Formation des particules d'albumine	Solution aqueuse d'albumine sous agitation <u>Origine de l'albumine</u> : peu important <u>Taille</u> : fonction de la vitesse d'agitation.	Solution de SAH (1 à 2%) dans NaCl 0,9% Sous agitation
2. Stabilisation des particules	Vitesse d'agitation constante \pm agent stabilisateur	Sous agitation pH : 5,0 à 5,7 (rôle de stabilisateur) \pm Tween 80
3. Durcissement des particules	Self-crosslinking T°C chauffage > 50°C Importance du temps de chauffage	1 à 2 étapes de chauffage de 5 à 20 min entre 70 et 80°C.
4. Récupération des particules	Sédimentation et retrait du surnageant	Refroidissement à T°C ambiante Sédimentation Retrait du surnageant

Tableau 1 : Mise en correspondance des étapes de formation des microsphères d'albumine décrites dans la littérature avec celles mentionnées par Arshady *et al.*

- B. Scintigraphie de perfusion pulmonaire : les [^{99m}Tc]Tc-MAA
1. La chimie des [^{99m}Tc]Tc-MAA

Parmi les différentes formes de SAH, les MAA sont probablement les plus utilisés en médecine nucléaire pour le marquage au ^{99m}Tc (30). Il existe peu de données concernant la nature de la liaison entre le ^{99m}Tc et les MAA. En revanche, bien que la nature du complexe [^{99m}Tc]Tc-SAH ne soit pas totalement clarifiée, quelques travaux ont émis des hypothèses sur la nature de cette liaison qui d'après la composition des MAA, pouvaient certainement être extrapolées au complexe ^{99m}Tc -MAA.

Par exemple, pour Lin et al., l'hypothèse de liaison entre le ^{99m}Tc et la SAH la plus probable était celle du marquage direct qui impliquait une réduction du $^{99m}\text{Tc(VII)}$ formant le $^{99m}\text{TcO}_4^-$ par le Sn^{2+} contenu dans les trousse commerciales sous la forme de SnCl_2 (16). La forme cationique du Tc pouvait alors interagir avec les groupes donneurs d'électron de la protéine (13, 16). Certains auteurs ont suggéré que le $^{99m}\text{Tc(VII)}$ issu du générateur de $^{99}\text{Mo}/^{99m}\text{Tc}$ était réduit par l'albumine-Sn(II) pour former un complexe $(\text{Tc}=\text{O})^{3+}$ - agrégats d'albumine (13). En revanche, tous se sont accordés pour dire que le rendement de marquage était optimal lorsqu'il était réalisé à température ambiante avec un pH compris entre 5 et 7, l'excès d'albumine contenu dans les différents kits commerciaux servant de stabilisateur (13, 16, 30). Cependant, récemment, lors de leur étude de la liaison entre le ^{99m}Tc et les MAA, Canziani et son équipe ont montré que 4% du ^{99m}Tc était fixé à cet excès d'albumine contenue dans le kit commercial de MAA (30).

La même étude a montré que la cinétique de marquage de la SAH par le ^{99m}Tc était inférieure à celle du marquage des nanocolloïdes d'albumine, elle-même plus lente que la cinétique de marquage des MAA, probablement en lien avec une réactivité plus importante de la surface des MAA du fait de leur formes très irrégulières (cf. Figure 8)(30). Ce résultat corroborait l'hypothèse de Vanbilloen et son équipe, selon laquelle les ions Sn^{2+} présents dans les trousse de SAH, étaient piégés dans la structure tertiaire de la protéine (31). Les ions $^{99m}\text{TcO}_4^-$ ajoutés à la trousse devaient alors diffuser jusqu'au site piégeant les ions Sn^{2+} . Le $^{99m}\text{Tc(VII)}$ pouvait ainsi être réduit, expliquant ainsi une cinétique de

marquage plus lente pour le marquage de la SAH que pour celui des MAA (31). Par ailleurs, Canziani et son équipe ont également mis en évidence une forte coopérativité positive (effet allostérique positif) entre le ^{99m}Tc et les MAA, peut-être en lien avec un réarrangement des chaînes latérales d'acides aminés exposées à la surface des MAA suite aux premières fixations de ^{99m}Tc sur les MAA (30). Les mêmes auteurs ont également montré une transchélation du ^{99m}Tc fixé sur les MAA par une réaction de compétition entre les MAA et l'acide dimercaptosuccinique (DMSA), suggérant ainsi que le ^{99m}Tc était localisé très en surface des MAA et donc proches du solvant, facilitant ainsi la transchélation (30).

2. Préparation et contrôle des [^{99m}Tc]Tc-MAA

La préparation des [^{99m}Tc]Tc-MAA est réalisée à partir :

- d'un éluat de ^{99m}Tc issu d'un générateur de $^{99}\text{Mo}/^{99m}\text{Tc}$
- d'une trousse commerciale de MAA composée principalement de :

MAA,

Albumine humaine,

Chlorure stanneux (SnCl_2).

Il s'agit d'une préparation en 2 grandes étapes (élution du générateur et mélange de l'éluat au contenu de la trousse) permettant d'obtenir une suspension multidose.

Actuellement, la seule trousse de MAA disponible sur le marché français est le Pulmocis[®] commercialisé par CIS Bio International (Curium, Saclay, France).

D'après les recommandations du fournisseur, l'activité en ^{99m}Tc nécessaire doit être comprise entre 92,5 et 3700 MBq pour un volume final allant de 2,5 à 10 mL. L'éluat de ^{99m}Tc peut être complété avec du NaCl 0,9% pour atteindre le volume souhaité. Après injection de cette solution dans la trousse, le flacon est placé sous agitation pendant 2 min puis laissé au repos pendant 15 min avant le contrôle du produit fini.

D'après les Bonnes Pratiques de Préparation, cette préparation radiopharmaceutique doit être contrôlée avant administration au patient. Les contrôles réalisés sont ceux indiqués dans le Résumé des Caractéristiques du Produit (RCP) et la monographie de Pharmacopée «TECHNETIUM (^{99m}Tc) (MACROSALB-), suspension injectable de », à savoir :

Un contrôle visuel des caractères organoleptiques. La suspension doit être homogène et blanchâtre.

Un contrôle de pH à l'aide de papier pH. D'après le RCP, le pH doit être compris entre 5,0 et 7,0.

Un contrôle de la Pureté RadioChimique (PRC) par la méthode de mesure de la radioactivité non filtrable.

Le principe consiste à diluer une goutte de la préparation à contrôler dans 1 mL de NaCl 0,9% puis à l'injecter sur une membrane en polycarbonate de 13 à 25 mm de diamètre et 10 μm d'épaisseur comportant des pores circulaires de 3 μm de diamètre (photo 1).

La membrane est ensuite rincée avec 2 mL de NaCl 0,9%. Le filtrat est recueilli dans un tube.

La radioactivité de la membrane et du filtrat est comptée dans la même géométrie de comptage à l'aide d'un spectromètre gamma équipé d'une sonde iodure de sodium activée au thallium (NaI (TI)).

Le pourcentage de [^{99m}Tc]Tc-MAA est calculé comme indiqué ci-dessous :

$$\frac{X}{X+Y} \times 100 \quad \text{avec} \quad \begin{array}{l} X : \text{radioactivité du filtre} \\ Y : \text{radioactivité du filtrat} \end{array}$$

La PRC doit être supérieure ou égale à 90%.

La préparation étant une suspension sédimentant au repos, il est indispensable d'agiter le flacon avant chaque prélèvement afin d'homogénéiser la suspension.



Photo 1 : Mesure de la radioactivité non filtrable d'une préparation de $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-MAA}$.

3. Données pharmacologiques des $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-MAA}$

Les propriétés pharmacologiques des $^{99m}\text{Tc-MAA}$ sont essentiellement liées à la taille des MAA. En effet, pour obtenir une image représentative de la perfusion pulmonaire, les $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-MAA}$ doivent atteindre les artérioles pulmonaires terminales qui ont un diamètre compris entre 10 et 20 μm selon les auteurs (32, 33). Les particules dont le diamètre est inférieur à 10 μm restent dans la circulation et sont très probablement phagocytées par le système réticulo-endothélial (32).

D'après le Pharmacopée Européenne, la trousse de MAA doit contenir au maximum 10 particules dont la taille est supérieure à 100 μm et aucune avec une dimension supérieure à 150 μm . Le marquage au ^{99m}Tc des MAA respecte cette spécification. En effet, les données de la littérature ont montré que les $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-MAA}$ avaient une taille moyenne comprise entre 20 et 40 μm et que 90% des particules mesuraient entre 10 et 90 μm (32).

Par ailleurs, d'après le Résumé des Caractéristiques du Produit (RCP) de la trousse de MAA (Pulmocis®), 60 000 à 700 000 particules de MAA doivent être injectées pour obtenir une répartition uniforme de l'activité soit 1 particule de $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-MAA}$ pour 428 à 5000 artérioles pré-capillaires si l'on considère que les poumons en comportent environ 300 millions (34).

De nombreuses études ont déjà montré la localisation prédominante des [^{99m}Tc]Tc-MAA dans les poumons que ce soit chez l'homme ou chez l'animal.

A titre d'exemple, chez une femelle lapin injectée avec 5 MBq de [^{99m}Tc]Tc-MAA dans la veine de l'oreille, plus de 90% de l'activité injectée était retrouvée dans les poumons quelques minutes après l'administration et plus de 80% de cette activité y persistait durant la première heure suivant l'injection. L'activité présente dans les poumons diminuait ensuite régulièrement pour atteindre 38% de la dose injectée 24h après l'administration(25). Par ailleurs, une étude menée chez des rats Sprague Dawley injectés avec une activité comprise entre 1,85 et 3,7 MBq, a montré que $86,6 \pm 0,7\%$ de la dose injectée corrigée de la décroissance par organe (DI-CD/o) était détectée dans les poumons 2 h après administration dans la veine de la queue du rat et $79,2 \pm 1,5\%$ 4h après injection (35). Dans ce même travail, il a été mis en évidence que le ^{99m}Tc était lentement décomplexé des MAA et extrait par les reins pour être éliminé dans les urines à raison de $7,6 \pm 1,3 \%$ DI-CD/o après 2h et $12,3 \pm 1,2 \%$ DI-CD/o après 4h. La demi-vie biologique pour les ^{99m}Tc-MAA était de $11,4 \pm 1,7$ h (35).

Les premières trousse de MAA à marquer avec du ^{99m}Tc ont fait leur apparition au début des années 1970. Elles ont supplanté l'utilisation des [¹³¹I]I-MAA introduits dans les années 60 par Taplin et al. et Wagner et al. qui étaient beaucoup plus irradiants pour le patient (27, 36, 37). En 1973, Chandra et al. ont publié une première évaluation chez des patients réalisant une scintigraphie pulmonaire. Sur la base de la moyenne du nombre de coups par minute (CPM) dans les poumons de 7 patients, la demi-vie biologique des [^{99m}Tc]Tc-MAA dans les poumons était alors estimée à $11,5 \pm 4$ h (37). Par ailleurs, chez les mêmes 7 patients, le nombre de CPM était maximal dans le foie et les reins respectivement, 20 et 10 h après l'injections des [^{99m}Tc]Tc-MAA. Ces résultats ont conduit les auteurs à supposer que les particules de MAA étaient métabolisées en microagrégats d'albumine éliminées par le foie et en technétium libre dont une partie était éliminée par voie urinaire. Cette hypothèse a été renforcée par le faible taux sanguin de radioactivité 15 min, 4h et 24h après l'administration des ^{99m}Tc-MAA (37).

Dix ans plus tard, une étude cinétique menée chez 7 patients ayant bénéficiés d'une scintigraphie pulmonaire ou d'une veinographie aux ^{99m}Tc Tc-MAA a montré une élimination des ^{99m}Tc Tc-MAA hors des poumons suivant une loi bi-exponentielle avec une première phase dont la période effective était de $0,88 \pm 0,16\text{h}$ (56% de l'activité pulmonaire) et une seconde dont la période effective était de $4,56 \pm 0,39\text{h}$ (44% de l'activité pulmonaire) (38). Ils ont ainsi confirmé les résultats de Robbins et al. publiés en 1976, rapportant également une élimination pulmonaire bi-exponentielle mais avec une période effective de 10,4 min pour la première phase et de 4,77h pour la deuxième phase (38, 39).

Le travail de Malone et al. soulignait également que l'activité remise en circulation était éliminée par les reins, la vessie et l'estomac avec des pics d'activité de $3,6 \pm 2,1\%$ de la dose injectée corrigée de la décroissance (DI-CD) pour les reins et $5,1 \pm 4\%$ de la DI-CD pour la vessie 3h après l'administration et de $3,5 \pm 2,5\%$ de la dose injectée corrigée de la décroissance pour l'estomac 4,4h post administration (38). La fixation stomacale observée ici n'avait pas été mise en évidence par Chandra et al. En revanche, elle avait déjà été décrite par certains auteurs avec l' ^{131}I I-MAA. Par ailleurs, dans cette étude de Malone et al., l'élimination urinaire du ^{99m}Tc se faisait majoritairement dans les 24h suivant l'administration des ^{99m}Tc Tc-MAA ($40 \pm 14\%$ de l'activité injectée) (38).

Concernant les propriétés pharmacologiques, Le résumé des Caractéristiques du Produit (RCP) du Pulmocis® mentionne qu'après injection intraveineuse, les MAA sont entraînés jusqu'au premier filtre capillaire et restent temporairement en position occlusive dans la lumière du capillaire avec une durée de séjour qui varie en fonction de la structure, de la taille et du nombre de particules. L'élimination des MAA hors des poumons suit une loi exponentielle avec comme, évoqué précédemment par certains auteurs, 2 composantes : une période biologique de 2 à 8h pour les particules de 5 à 90 μm de diamètre et une période biologique plus longue pour les plus gros MAA.

Par ailleurs, concernant l'élimination des ^{99m}Tc Tc-MAA, le RCP confirme l'hypothèse émise en 1973 par Chandra et al. selon laquelle, les ^{99m}Tc Tc-MAA sont métabolisés sous forme de microcolloïdes d'albumine remis dans la circulation et rapidement éliminés par le foie et la rate. Lors de leur

métabolisation les microcolloïdes libèrent le ^{99m}Tc dans la circulation sanguine d'où il est éliminé par les reins et excrété dans les urines.

4. En synthèse

La nature de la liaison entre le ^{99m}Tc et les MAA n'est pas totalement élucidée. Cependant, il semblerait que le $^{99m}\text{Tc(V)}$ interagisse avec les groupements donneurs d'électron de l'albumine formant les MAA.

Pour un rendement optimal, le marquage des MAA par le ^{99m}Tc doit être réalisé à température ambiante, à un pH compris entre 4 et 7 et en présence d'un réducteur (SnCl_2) et de SAH qui sert de stabilisateur.

La préparation et le contrôle de la suspension de ^{99m}Tc -MAA sont résumés dans la figure 9.

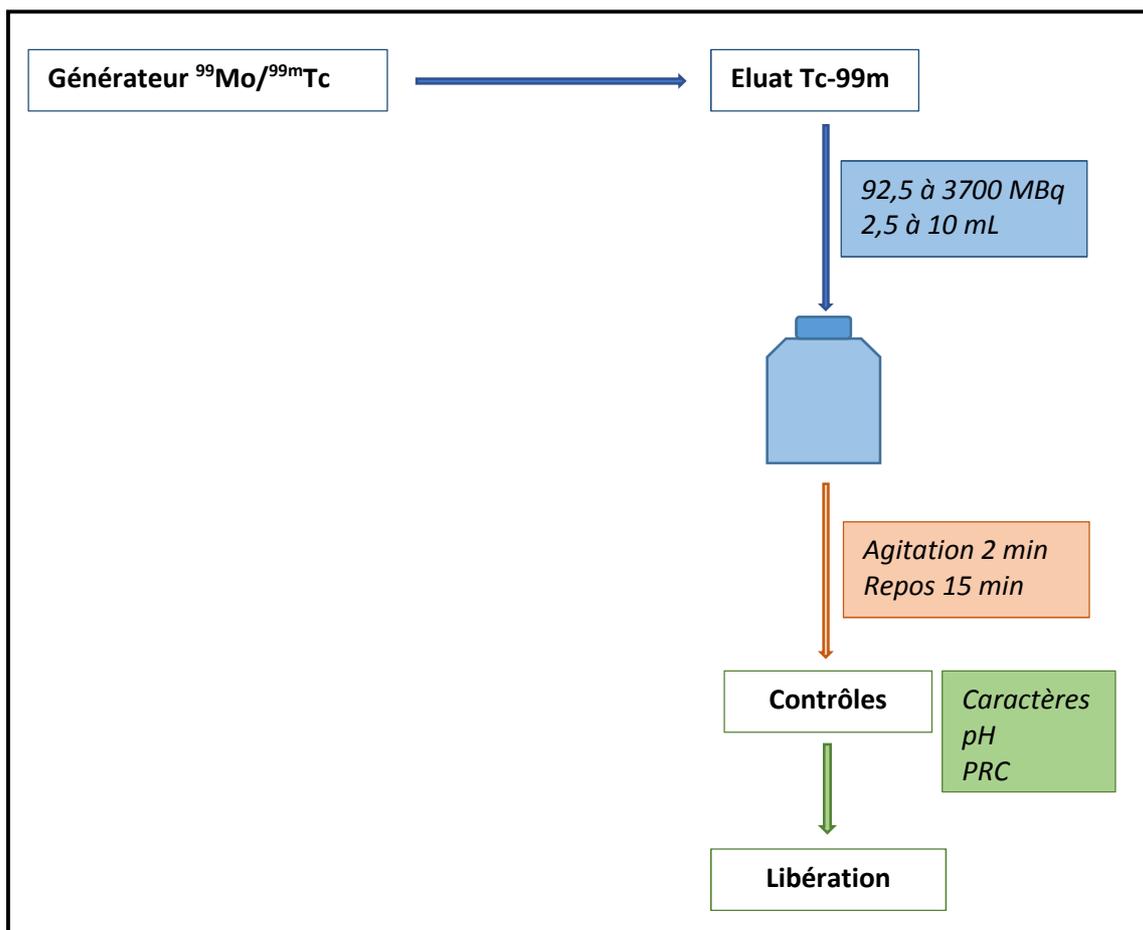


Figure 9 : Schéma récapitulatif de la préparation et du contrôle de la suspension de ^{99m}Tc -MAA

Après administration intraveineuse, les [^{99m}Tc]Tc-MAA se localisent majoritairement au niveau des poumons (figure 10). En effet, leur taille inférieure à 100 μm pour la plupart des MAA leur permet de se placer en position occlusive dans la lumière des capillaires pulmonaires.

Leur élimination suit une loi bi-exponentielle en fonction de leur taille. D'après le RCP, les particules avec un diamètre compris entre 5 et 90 μm soit la majorité, ont une période biologique comprise entre 2 et 8h alors que les particules plus grosses auront une période biologique plus longue, ce qui rejoint les résultats de Malone et al. qui ont trouvé une période effective de $0,88 \pm 0,16\text{h}$ soit une période biologique d' $1,02 \pm 0,16\text{h}$ pour la première composante et une période effective de $4,56 \pm 0,39\text{h}$ soit une période biologique de $18,5 \pm 0,42\text{h}$ pour la seconde composante.

Les [^{99m}Tc]Tc-MAA sont métabolisés sous la forme de microcolloïdes d'albumine qui libèrent le ^{99m}Tc dans la circulation sanguine. Les microcolloïdes sont rapidement éliminés par le foie et la rate alors que le ^{99m}Tc est éliminé par les reins et excrété dans les urines expliquant ainsi les fixations de la vessie à des temps plus tardifs.

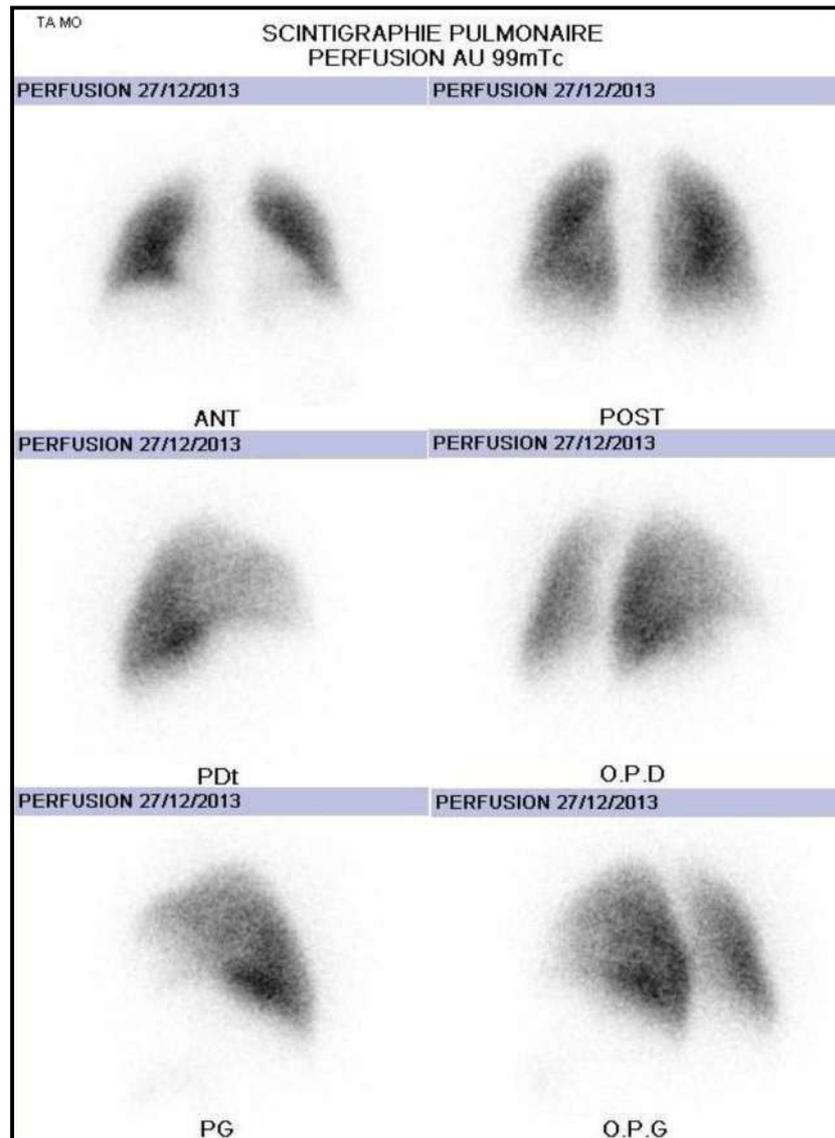


Figure 10 : scintigraphie planaire de perfusion pulmonaire réalisée après l'administration de ^{99m}Tc -MAA

C. TEP de perfusion pulmonaire : les ^{68}Ga -MAA

1. La chimie des ^{68}Ga -MAA

La littérature a mentionné deux possibilités pour marquer la SAH dont dérivent les MAA avec le ^{68}Ga :

- Soit par l'intermédiaire d'un chélateur bifonctionnel comme le DTPA fixé sur les groupes amide de la SAH, formant alors des chélates stables *in vivo* dans les heures qui suivent l'injection et ayant un faible taux de transchélation avec la transferrine aux dépens d'un temps de marquage relativement long (30 min) (36, 40).

- Soit en procédant à un marquage direct par hydrolyse et précipitation de l'ion $^{68}\text{Ga}^{3+}$ en présence des particules d'albumine (41-43).

Cette deuxième solution a été la plus étudiée avec pour but de simplifier le marquage grâce à l'utilisation de trousse commerciales de MAA initialement conçues pour être marquées avec du $^{99\text{m}}\text{Tc}$. Cependant, les données de la littérature sur la nature de la liaison entre le ^{68}Ga et les MAA sont peu fournies et restent très hypothétiques.

En 2008, l'hypothèse de l'adsorption du ^{68}Ga à la surface des particules de MAA après hydrolyse en hydroxyde de gallium insoluble a été émise mais sans pour autant exclure la possibilité d'une interaction spécifique de l'ion $^{68}\text{Ga}^{3+}$ avec les paires d'ions exposées de la protéine (43).

En 2016, le marquage au ^{68}Ga d'une suspension de MAA contenant du chlorure d'étain a été comparé à celui de MAA n'en contenant pas. Les résultats ont montré un rendement de marquage nettement plus faible et une stabilité *in vitro* bien moins bonne avec les MAA ne contenant pas de SnCl_2 suggérant ainsi que ce dernier jouait un rôle non négligeable dans la réaction de marquage (26).

En 2022, l'obtention d'une pente de Hill inférieure à 1 (0,893) lors d'une étude d'affinité de fixation entre les MAA et le ^{68}Ga a suggéré que les MAA avaient de multiples sites de fixation pour le Ga avec des affinités différentes (figure 11). Contrairement au $^{99\text{m}}\text{Tc}$ qui dans les mêmes conditions suggérait une coopérativité positive (effet allostérique positif) avec une pente de Hill supérieure à 1 (2,36) (figure 11). Par ailleurs, cette même étude a montré que les MAA pouvaient fixer à la fois du ^{68}Ga et du $^{99\text{m}}\text{Tc}$ sans discrimination. Il a alors été conclu que les glutamate et aspartate des MAA plus exposés aux solvants pouvaient être impliqués dans la liaison des MAA au Ga bien qu'ils aient précédemment été identifiés comme des sites de fixation avec une faible affinité et une faible spécificité pour les cations multivalents (30).

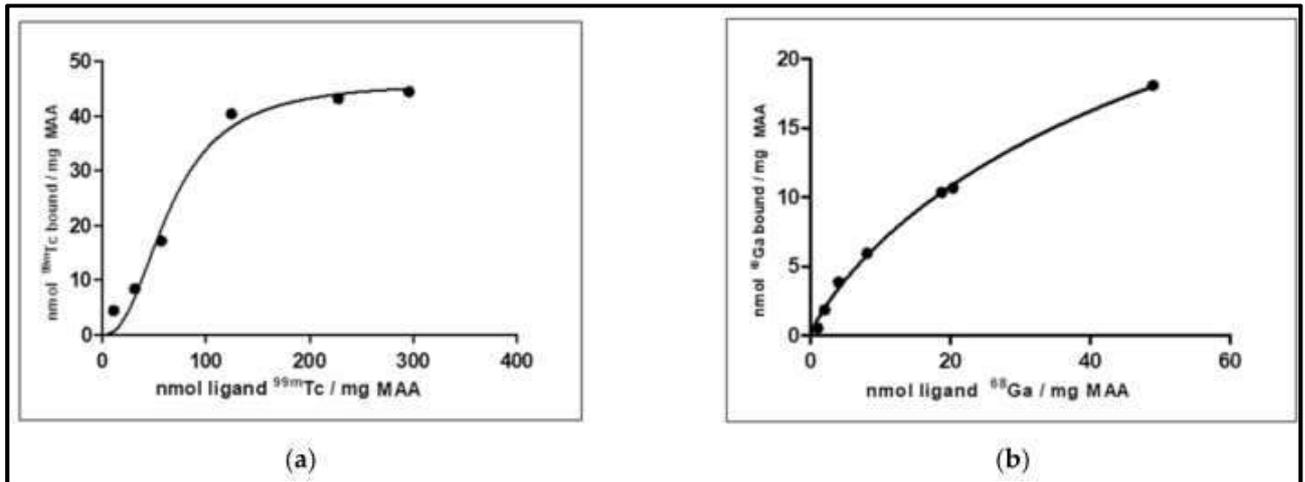


Figure 11 : Résultats des études de liaison à saturation (liaison spécifique déterminée par l'équation de la pente de Hill) pour déterminer l'affinité de liaison entre les MAA et le ^{99m}Tc (a) et le ^{68}Ga (b).
D'après Canziani et al. *Molecules*. 2022.

2. Préparation et contrôles des ^{68}Ga Ga-MAA

Alors que la préparation des ^{99m}Tc Tc-MAA est un procédé simple comportant 2 étapes, les propriétés chimiques du ^{68}Ga en imposent au moins 4 étapes (Figure 12).

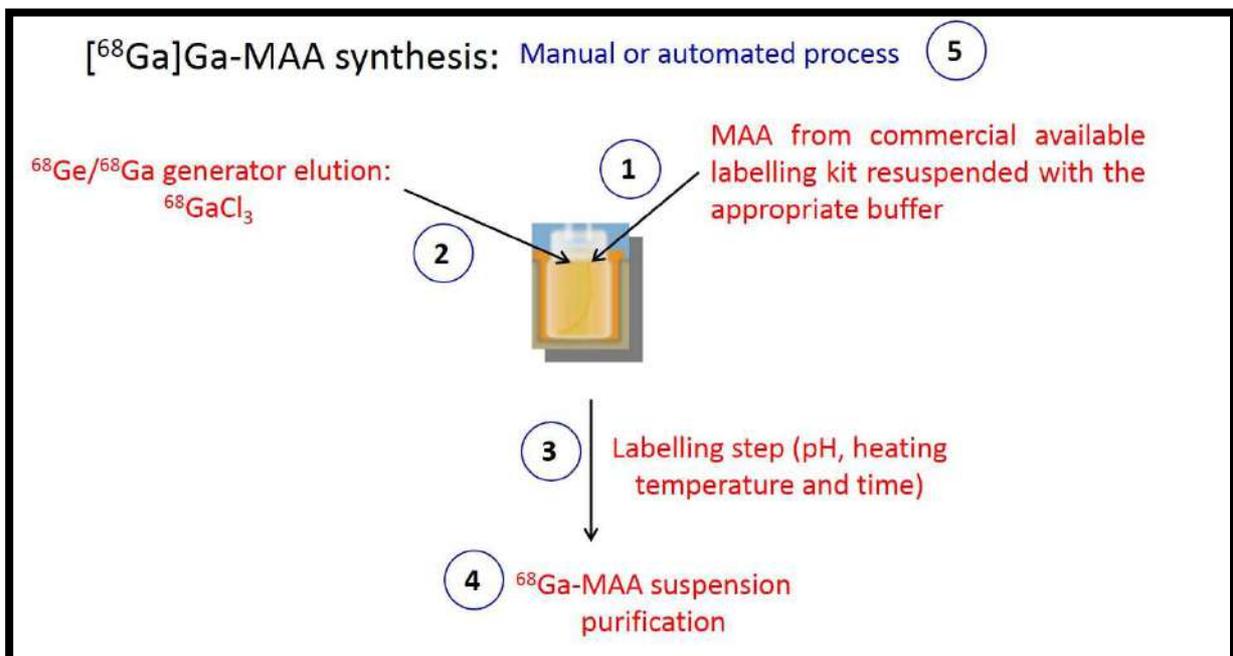


Figure 12 : Points clés du marquage des MAA au ^{68}Ga . D'après Blanc-Béguin et al. *Pharmaceuticals*. 2022.

Le tableau 2 reprend les données de la littérature concernant la synthèse des ^{68}Ga Ga-MAA. Les points clés de ce marquage étaient (1) le choix des MAA, (2) la pré-purification ou non de l'éluat de ^{68}Ga , les

conditions de marquage (pH, température et temps de chauffage), (4) la purification de la suspension de [⁶⁸Ga]Ga-MAA et (5) la possibilité d'automatiser le procédé.

Etat de l'art

	Particules d'albumine marquées		Pré-purification de l'éluat de ⁶⁸ Ga		Conditions de marquage				Rendement de marquage (%)	Durée de synthèse	Procédé manuel / automatique
	Nature and origine	Lavées/non lavées	Oui/non	Méthode utilisée	pH	Tampon	Temps de chauffage (min)	T°C			
Hnatowich et al. (1976)	Microsphères SAH Kit commercial.	Non lavés	Oui	Résine échangeuse d'anions	2,6 - 3	Non précisé	15	40 - 60	65,0	40 min	Manuel
Hayes et al (1981)	Microsphères SAH Kit commercial.	Non lavés	Oui	Résine échangeuse d'anions	4,8	Solution d'acétate de sodium	10	37	97,4 ± 1.0	Non précisée	Manuel
Maziere et al (1986)	Microsphères SAH Kit commercial.	Non lavés	Oui	Pré-concentration	4,7	Non précisé	20	85	93,2 ± 2,5	40 min	Manuel
Even and Green (1989)	MAA. Kit commercial	Lavés	Oui	Pré-concentration	4,7	Tampon acétate	15	74 ± 1	77,0 -97,0	Non précisée	Manuel
Mathias et al (2008)	MAA. Kit commercial	Lavés	Non		5 - 6	Solution d'acétate de sodium	15	75	81,6 ± 5,3	25 min	Manuel
Maus et al (2011)	MAA. Kit commercial	Lavés	Oui	Fractionnement	4	HEPES	20	75	85,0 ± 2,0	30 min	Manuel
Hofman et al (2011)	MAA. Kit commercial	Lavés	Oui	Cartouche SCX	6,5	Solution d'acétate de sodium	5	70	≥ 90,0	Non précisée	Manuel
Ament et al (2012)	MAA. Kit commercial	Lavés	Oui	Fractionnement	4	HEPES	20	75	85,0 ± 2,0	Non précisée	Manuel
Amor-Coarasa et al (2014)	MAA. Kit commercial	Lavés	Non		4,7	Solution d'acétate de sodium	15	75	78,3 ± 3,1	Non précisée	Manuel
			Oui	Combinaison de résines échangeuses d'ions (cationique puis anionique)	4,7	Solution d'acétate de sodium	15	75	97,6 ± 1,5	Non précisée	Manuel
Jain et al (2016)	MAA faits par Jain et al. avec et sans SnCl ₂		Non		6	Solution d'acétate de sodium	15	75	77,6	Non précisée	Manuel
Mueller et al (2017)	MAA. Kit commercial	Lavés et non lavés	Oui	Cartouche SCX	4,5	Tampon acétate	10	115	Non mentionné (lavés) 75,0 (non-lavés)	20 min (manuel) 14 min (automatique)	Manuel et automatique

Etat de l'art

Shannehsazzadeh et al (2017)	MAA. Kit commercial	Lavés	Oui	Fractionnement	4	HEPES	8	75	90,0 -95,0	Non précisée	Manuel
Persico et al (2020)	MAA. Kit commercial	Lavés	Oui	Cartouche SCX	6 – 6,5	Tampon acétate	15	40	97,0	Non précisée	Manuel et automatique
Gultekin et al (2020)	MAA. Kit commercial	Lavés	Oui	Cartouche PSH ⁺	4 - 5	HEPES	7	90	80,0	Non précisée	Manuel
Ayşe at al (2021)	MAA. Kit commercial	Lavés	Oui	Cartouche PSH ⁺	4 - 5	HEPES	7	90	85,0 ± 3,0	16 min	Automatique

Tableau 2 : Conditions de marquage des MAA par le ⁶⁸Ga des différentes méthodes décrites dans la littérature.

- Les MAA

Comme indiqué dans le tableau 2, la plupart des auteurs ont utilisé des trousse (ou kits) commerciales de MAA prévues pour le marquage au ^{99m}Tc dans le but de simplifier la procédure de marquage.

Cependant, les trousse commerciales contenaient un réducteur (SnCl_2) et de l'albumine libre conduisant la plupart des équipes à laver les MAA avec du NaCl 0,9% pour supprimer le SnCl_2 et l'albumine libre (1, 34, 35, 43-50). En effet, il a été montré que le ^{68}Ga pouvait se lier à l'albumine libre contribuant ainsi à diminuer le rapport signal sur bruit dans les poumons (30).

Par ailleurs, plusieurs auteurs ont obtenu de meilleures PRC du produit fini en lavant les MAA avant le marquage. C'était le cas de Ayşe et al. qui ont trouvé une PRC de $99,0 \pm 0,1\%$ après lavage des MAA pour une PRC de $95,0 \pm 0,1\%$ sans lavage (50). Le même constat a été fait par Even et al. qui ont mis en évidence une augmentation du rendement de marquage de plus de 57% en effectuant un pré-lavage des MAA de l'un des kits testés (<40% sans pré-lavage, > 97% avec pré-lavage) (44). A contrario, certaines données de la littérature mentionnaient que le pré-lavage des MAA, notamment pour retirer le SnCl_2 n'était pas nécessaire (47). Une équipe ayant préparé ses propres MAA avec et sans SnCl_2 a obtenu de meilleurs rendements de marquage avec les MAA contenant l'étain ($84,5 \pm 5,3\%$) qu'avec les MAA n'en contenant pas ($49,9 \pm 1,3\%$) suggérant ainsi que le SnCl_2 pouvait intervenir dans le mécanisme de marquage (26).

Au regard de ces différents résultats, l'utilisation de trousse commerciales de MAA prévues pour le marquage au ^{99m}Tc semblait tout à fait envisageable pour un marquage au ^{68}Ga , sans qu'il soit absolument nécessaire de procéder à un pré-lavage des MAA.

- L'éluat de ^{68}Ga

Quel que soit le générateur de $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ utilisé, l'éluat de ^{68}Ga obtenu contient des impuretés de métaux cationiques telles que du titane sous la forme Ti^{4+} si le générateur comporte une

colonne de dioxyde de titane (TiO_2), ou du zinc sous la forme Zn^{2+} provenant de la décroissance du ^{68}Ga ou encore du fer sous la forme Fe^{2+} . Ces impuretés peuvent entrer en compétition avec le ^{68}Ga et diminuer les rendements de marquage (51, 52). Par ailleurs, les générateurs de ^{68}Ga utilisés actuellement ont l'inconvénient d'avoir un volume d'élution relativement important donnant des éluats avec une faible concentration en ^{68}Ga et qui plus est, contaminés par le ^{68}Ge , radionucléide père du ^{68}Ga . Des éluations régulières et une élution environ 4h avant la synthèse permettent de réduire la contamination par les métaux et le ^{68}Ge (51). En revanche, la réduction du volume d'éluat utilisé pour le marquage nécessite de procéder à une élution fractionnée ou à une pré-concentration qui permet également de purifier l'éluat.

La plupart des équipes ayant travaillé sur la synthèse des ^{68}Ga Ga-MAA, ont proposé une pré-purification de l'éluat de ^{68}Ga avant son utilisation pour le marquage (tableau 2).

Il existe différentes techniques de purification de l'éluat qui dépendent entre autre du type de générateur utilisé avec notamment la chromatographie échangeuse d'anions, de cations voire la combinaison des deux, ou l'utilisation d'une cartouche échangeuse de cations. Cette dernière semblait la plus utilisée dans les procédés de préparation des ^{68}Ga Ga-MAA permettant d'obtenir des rendements de marquage variant de 65 à 97,4% corrigés ou non de la décroissance (1, 47-50).

Dans un petit nombre de cas, aucun procédé de pré-purification et de fractionnement de l'éluat n'a été utilisé, sans dégrader les rendements de marquage alors compris entre 77,6 et 81,6% corrigé ou non de la décroissance et en conservant un taux de ^{68}Ge au moins inférieur à 0,01% (26, 35, 43).

La pré-purification de l'éluat de ^{68}Ga qui allongeait le temps de synthèse ne semblait donc pas indispensable pour obtenir un bon rendement de synthèse.

- Conditions de marquage

Les points clés du marquage des MAA par le ^{68}Ga sont le pH, la température et la durée du chauffage. Comme l'indique le tableau 2, les données de la littérature concernant ces paramètres étaient assez variables.

Les pH variaient entre 2,6 et 6,5 avec des rendements de marquage allant de 65 à 97,6% corrigés de la décroissance ou non. Cependant, les meilleurs rendements de marquage (77 à 97,4%) ont été obtenus pour un pH compris entre 4 et 6,5, ce qui était concordant avec les données de la littérature mentionnant que le ^{68}Ga ne se fixe pas à l'albumine pour un $\text{pH} > 7$ (53).

Par ailleurs, pour atteindre le pH qui convenait, 2 types de composés ont été utilisés : l'acétate sous forme de tampon acétate ou de solution d'acétate de sodium et le tampon HEPES (tableau 2). L'utilisation des tampons ou solution d'acétate était intéressante car ils ont la capacité de se comporter comme des ligands faibles vis-à-vis du ^{68}Ga permettant de le stabiliser, d'éviter la précipitation du $^{68}\text{Ga}^{3+}$ et de prévenir la formation de colloïdes.

Parmi les tampons et solutions d'acétate utilisés dans les synthèses proposées dans la littérature, le tampon HEPES était le plus efficace pour des concentrations de ligand faible (tableau 3), cependant il n'était pas autorisé pour l'administration à l'homme contrairement au tampon acétate ou aux solutions d'acétate de sodium (tableau 3) (51). L'utilisation de ces derniers permettait donc de simplifier la préparation du point de vue administratif puisqu'il ne nécessite ni purification ni contrôle pour une utilisation chez l'homme.

C		
	HEPES buffer	Acetate buffer
Biocompatible	+	+
Toxicology (LD ₅₀)	Quail: 316 mg/kg)	Rat: 90 mL/kg
Stabilizing agent	+	+
Transchelation	+	+
pH	+	+
Human use	—	+
Purification	Required	Not required
QC	Required	Not required

Tableau 3: Comparatif des caractéristiques des tampons acétate et HEPES. D'après Velikyan et al. *Molecules*. 2015.

Les températures de chauffage du milieu réactionnel retrouvées dans la littérature variaient de 40°C à 115°C et les temps de chauffage étaient compris entre 5 et 20 min (tableau 2). Quelles que soient les conditions de marquage, les rendements de marquage obtenus avec les MAA étaient tous relativement bons (supérieurs à 75% corrigés ou non de la décroissance). Une étude comparant les rendements de marquage obtenus avec 4 températures de chauffage (70, 80, 90 et 100°C) maintenues pendant un temps identique a montré une augmentation des rendements parallèlement à l'augmentation de la température (respectivement 90, 95, 99 et 99%) (50). Une autre étude comparant 3 températures (25, 50 et 75°C) maintenues 15 min à 2 pH différents (4 et 6) a également montré une augmentation des rendements de marquage avec l'augmentation de la température aux 2 pH. Les conditions optimales de réaction ont été trouvées avec un pH de 6 et un chauffage de 15 min à 75°C (26). Cependant, les travaux de plusieurs équipes ont suggéré que chauffer les MAA à une température ne dépassant pas 70°C permettait de préserver la structure et la taille des MAA alors qu'un chauffage à une température trop importante pouvait provoquer la rupture des plus gros MAA (35, 48).

Des études ont également comparé l'influence d'un temps de chauffage du milieu réactionnel allant de 3 à 50 min sur le rendement de marquage et ont obtenu les meilleurs résultats pour des temps compris entre 7 et 20 min (42, 50).

Au regard de ces observations et compte tenu de la période courte du ^{68}Ga , le choix d'un temps de chauffage le plus court possible paraissait approprié.

- Purification des ^{68}Ga]Ga-MAA

Parmi tous les procédés de synthèse des ^{68}Ga]Ga-MAA disponibles dans la littérature, la plupart comportaient une étape de purification des ^{68}Ga]Ga-MAA permettant d'améliorer la PRC du produit fini (Tableau 4).

	Conditions de purification des ^{68}Ga]Ga-MAA		PRC (%)
	Procédé de purification	Manuelle/automatique	
Maziere <i>et al</i> (1986)	Centrifugation	Manuelle	99,9
Even and Green (1989)	Centrifugation	Manuelle	$89,0 \pm 5,0 - 98,4 \pm 0,3$
Mathias <i>et al</i> (2008)	Centrifugation	Manuelle	$99,8 \pm 0,1$
Maus <i>et al</i> (2011)	Cartouche Sep-Pak C ₁₈	Manuelle	> 97,0
Ament <i>et al</i> (2012)	Centrifugation	Manuelle	> 97,0
Amor-Coarasa <i>et al</i> (2014)	Centrifugation	Manuelle	> 95,0
Jain <i>et al</i> (2016)	Centrifugation	Manuelle	$98,0 \pm 0,8$
Mueller <i>et al</i> (2017)	Pas de purification	Non précisé	> 95,0
Shannehazzadeh <i>et al</i> (2017)	Centrifugation	Manuelle	100,0
Persico <i>et al</i> (2020)	Pas de purification	Non Précisé	97,0
Gultekin <i>et al</i> (2020)	Centrifugation	Manuelle	99,0
Ayşe <i>et al</i> (2021)	Pas de purification	Non précisé	99,0

Tableau 4 : Procédé de purification des ^{68}Ga]Ga-MAA et PRC de la suspension finale selon les différents auteurs.

Comme le montre le tableau 4, la technique la plus utilisée pour l'étape de purification était la centrifugation du produit fini qui permettait d'éliminer le surnageant contenant le potentiel ^{68}Ga non fixé aux MAA. Les PRC obtenues étaient alors supérieures à 95% pour la majorité des préparations. Le point négatif de cette technique était la nécessité d'une intervention

manuelle qui engendrait une irradiation supplémentaire du personnel, un risque de contamination bactériologique de la préparation et une perte de temps alors que la période du ^{68}Ga est courte. Dans un cas, une cartouche Sep-Pak C18 a été utilisée après avoir augmenté le volume de la suspension de ^{68}Ga Ga-MAA à 10 mL avec de l'Eau Pour Préparation Injectable (EPPI). La cartouche a ensuite été rincée 2 fois avec de l'eau PPI pour obtenir un produit fini avec une PRC supérieure à 97% (45). Bien que plus sécurisée pour maintenir la stérilité de la préparation car elle ne nécessitait pas de sortir la préparation de son environnement stérile, cette méthode manuelle, ne protégeait pas non plus le personnel d'une irradiation supplémentaire.

Parmi les procédés de purification décrits dans la littérature, aucun ne permettait à la fois d'assurer le maintien de la stérilité de la préparation et la protection des manipulateurs d'une irradiation supplémentaire.

- Automatisation du procédé de synthèse

Comme l'indique le tableau 2, la majorité des procédés de synthèse des ^{68}Ga Ga-MAA décrits dans la littérature étaient manuels bien que l'automatisation du procédé améliore la radioprotection du personnel en charge de la préparation. En mode manuel, les temps de préparation variaient entre 20 et 40 min. Mueller et al. ont montré que l'utilisation d'un automate de synthèse permettait de réduire le temps de synthèse de 20 à 14 min (47).

Assez peu de synthèses automatisées ont été décrites dans la littérature (47, 48). Par ailleurs, aucune publication n'a décrit une purification des ^{68}Ga Ga-MAA automatisée.

3. Données pharmacologiques des ^{68}Ga Ga-MAA

De manière identique aux $^{99\text{m}}\text{Tc}$ Tc-MAA, la taille des ^{68}Ga Ga-MAA est un facteur important qui va fortement influencer leurs propriétés pharmacologiques.

Si l'on se réfère à la Pharmacopée Européenne, la préparation de MAA marqués doit contenir majoritairement des particules dont la taille est comprise entre 10 et 90 μm , avec moins de 10 particules ayant une taille supérieure à 100 μm et aucune particule supérieure à 150 μm .

Par ailleurs, il a été montré que des particules mesurant moins de 10 μm sont retenues par le système réticulo-endothélial ou se localisent au niveau des os de façon similaire aux nanocolloïdes utilisés pour les scintigraphies de la moelle osseuse (34).

La plupart des données de la littérature rapportaient des tailles pour les ^{68}Ga]Ga-MAA comprises entre 10 et 90 μm (24,31 μm , pour Shannehsazzadeh et al., de 43 à 51 μm pour Canziani et al. et $52,9 \pm 15,2$ μm pour Jain et al.) (26, 30, 34).

Le maintien de la structure des MAA après le marquage est également un point important pour la conservation des propriétés pharmacologiques des MAA. Les auteurs décrivant des procédés de synthèse des ^{68}Ga]Ga-MAA et ayant étudié la structure des MAA après marquage ont tous montré par le biais d'image de microscopie que la structure des MAA était maintenue (Figure13) (43, 46-50).

La taille et la structure des ^{68}Ga]Ga-MAA étant similaires à celles des $^{99\text{m}}\text{Tc}$]Tc-MAA, le nombre de ^{68}Ga]Ga-MAA à injecter pour obtenir une distribution de l'activité uniforme et reflétant la perfusion régionale sera identique au nombre de $^{99\text{m}}\text{Tc}$]Tc-MAA soit compris entre 60 000 et 700 000 particules.

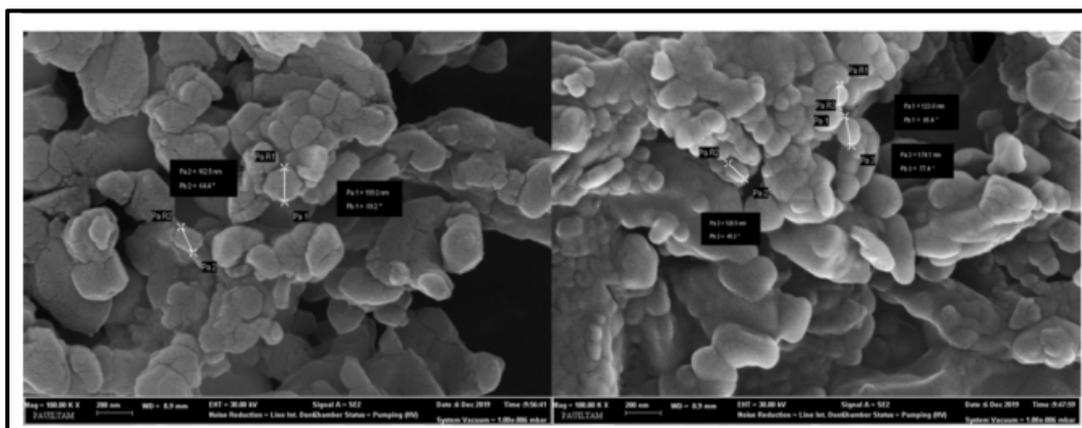


Figure 13 : Structure des MAA avant (à gauche) et après (à droite) marquage au ^{68}Ga (200 nm, Mag x 100.00K, EHT 30.00 KV). D'après Ayşe et al. *Nucl Med Mol Imaging*. 2021.

Les données de la littérature concernant la biodistribution des $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-MAA}$ ont rapporté une localisation très majoritaire dans les poumons des animaux étudiés avec très peu de captation dans d'autres organes, notamment le foie. En effet, plusieurs études menées chez le petit animal (femelles rats « wild type », rats « Sprague Dawley », souris « normal swiss ») ont montré une captation pulmonaire significative immédiatement après l'injection des $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-MAA}$ (figure 14). Plus de 80% de l'activité injectée était retrouvée dans les poumons dans les 5 à 15 min qui suivaient l'injection intraveineuse des $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-MAA}$ (26, 34, 35, 46).

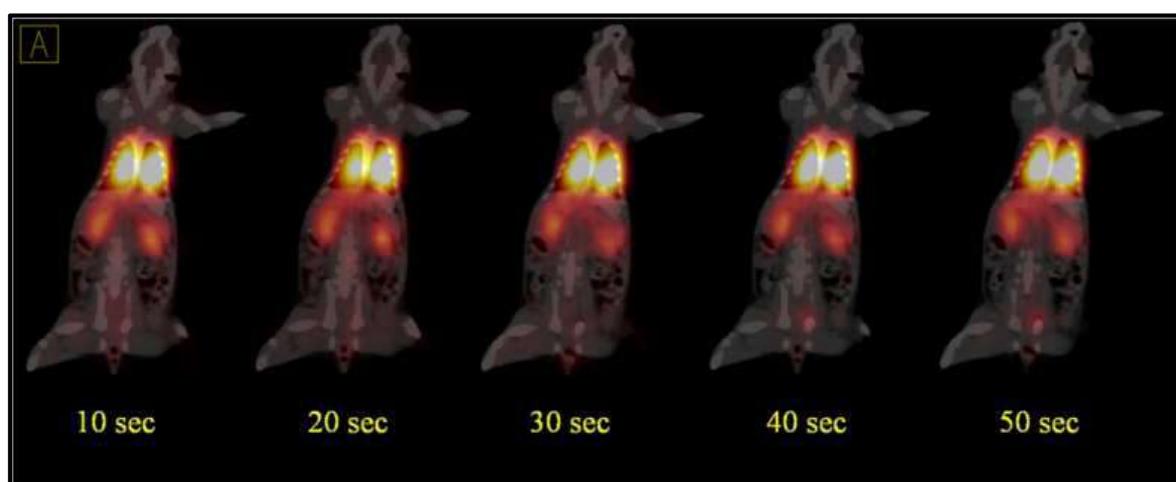


Figure 14 : Images dynamiques de TEP/TDM d'un rat « wild type » acquises pendant la 1^{ère} minute suivant l'injection de 1,85 MBq de $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-MAA}$. Les captations pulmonaires et rénales sont rapides. D'après Shanehsazzadeh et al. *IJPR*. 2017.

Chez des rats femelles « wild type », le maximum d'activité soit plus de 90% de l'activité injectée par gramme (AI/g) était atteint 10 min après l'injection et était maintenu pendant 10 min (figure 14). Par ailleurs, plus de 80% de l'AI/g persistaient dans les poumons 120 min après l'injection. L'activité maximale dans les reins était obtenue 1 min après l'injection intra veineuse et l'activité maximale dans la vessie était détectée 35 min après l'administration (figure 15)(34).

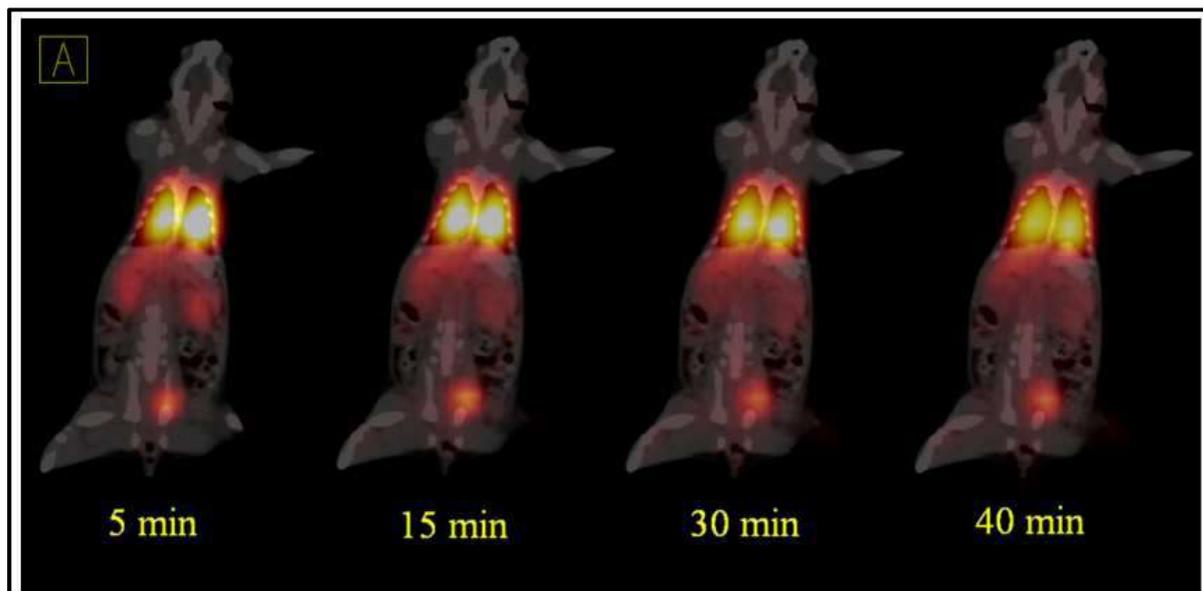


Figure 15 : Images dynamiques TEP/TDM d'un rat « wild type » 5, 10, 15, 30 et 40 min après l'injection des $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-MAA}$. L'activité est extraite de reins vers la vessie. D'après Shanehsazzadeh et al. *IJPR*. 2017.

Comme le montre le tableau 5 chez les rats « Sprague Dawley », plus de 98% des $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-MAA}$ injectés corrigés de la décroissance/ organe (AI-CD/o) était maintenu dans les poumons jusqu'à 4 h après l'injection. Seulement, 0,4% de l'AI-CD/o de $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-MAA}$ ont été retrouvée dans le foie (35, 46) et aucune activité n'était présente dans d'autres organes. Le pourcentage de ^{68}Ga libre administré avoisinait les 2 % ce qui était concordant avec les résultats obtenus chez des souris « normal swiss », pour lesquelles moins de 10 % de l'AI-CD/o était mesurée dans le sang 15 min post injection (26). Par ailleurs, toujours chez les rats « Sprague Dawley », $84,9 \pm 4,5\%$ et $63,1 \pm 3,9\%$ des 2% de ^{68}Ga libre (AI-CD/o) étaient présents dans le sang 2h et 4h après l'administration, probablement en partie lié à la transferrine du fait de la forte affinité du $^{68}\text{Ga}^{3+}$ pour cette dernière (34, 35, 54). Le ^{68}Ga libre non lié à la transferrine semblait être éliminé soit par les reins vers la vessie (3,1% AI-CD/o) soit absorbé par le foie (7,2% (AI-CD/o)).

Organ	Free ^{68}Ga		^{68}Ga -MAA		$^{99\text{m}}\text{Tc}$ -MAA		Hydrolyzed $^{99\text{m}}\text{Tc}$	
	2 hours	4 hours	2 hours	4 hours	2 hours	4 hours	2 hours	4 hours
Spleen	0.6 ± 0.5	1.6 ± 0.1	0.1 ± 0.0	0.1 ± 0.0	0.1 ± 0.0	0.1 ± 0.0	7.2 ± 1.1	11.8 ± 0.7
Blood	84.9 ± 4.5	63.1 ± 3.9	0.8 ± 0.8	0.8 ± 0.0	0.9 ± 0.2	0.9 ± 0.0	1.3 ± 1.2	0.4 ± 0.0
Rib	0.5 ± 0.4	1.3 ± 0.4	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
Urine	6.8 ± 2.9	14.0 ± 1.7	0.1 ± 0.0	0.1 ± 0.0	7.6 ± 1.3	12.3 ± 1.2	6.1 ± 4.0	0.6 ± 0.2
Right kidney	0.5 ± 0.5	1.6 ± 0.4	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	2.1 ± 0.1	3.3 ± 0.1	0.6 ± 0.1	0.4 ± 0.0
Left kidney	0.5 ± 0.5	1.4 ± 0.2	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	2.2 ± 0.2	3.4 ± 0.2	0.6 ± 0.1	0.4 ± 0.0
Heart	0.7 ± 0.7	1.5 ± 0.2	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.1 ± 0.0	0.2 ± 0.0	0.2 ± 0.0
Lungs	3.1 ± 2.9	8.4 ± 0.3	98.6 ± 0.7	98.6 ± 0.1	86.6 ± 0.7	79.2 ± 1.5	39.5 ± 1.5	45.2 ± 10.9
Liver	2.3 ± 1.9	7.2 ± 1.2	0.4 ± 0.2	0.4 ± 0.1	0.5 ± 0.0	0.9 ± 0.0	44.6 ± 2.8	40.9 ± 11.7

Tableau 6 : Biodistribution (AI-CD/o) des ^{68}Ga]Ga-MAA , du ^{68}Ga libre, des $^{99\text{m}}\text{Tc}$]Tc-MAA et du $^{99\text{m}}\text{Tc}$ hydrolysé dans les organes d'un rat Sprague Dawley 2 et 4h post-injection. D'après Amor- Coaraza et al. *Int J Mol Imaging*. 2014.

Aucune étude de biodistribution des ^{68}Ga]Ga-MAA chez l'homme ne semble avoir été publiée à ce jour. Quelques données sont disponibles par le biais d'une étude exploratoire effectuée sur 5 patients suspectés cliniquement d'avoir une embolie pulmonaire et chez qui une TEP de ventilation et de perfusion pulmonaire ont été réalisées. Cette étude a montré une distribution homogène des ^{68}Ga]Ga-MAA dans les poumons chez 3 patients. Chez un patient, des défauts de perfusion concordants avec la ventilation ont été mis en évidence (figure 16). Par ailleurs, les tests de stabilité *in vitro* dans le plasma humain n'ayant pas montré de relargage significatif de ^{68}Ga et aucune accumulation dans le pool vasculaire n'ayant été visualisée, les auteurs ont conclu que le complexe ^{68}Ga]Ga-MAA était plus stable que le complexe ^{68}Ga (III)-transferrine. Dans cette même étude, une fixation hépatique a été observée chez un patient mais elle a été attribuée à un shunt artério-veineux (46).

Malgré l'absence d'étude de biodistribution à proprement parlé, de nombreuses études ont déjà été menées chez l'homme montrant la cohérence de distribution pulmonaire des ^{68}Ga]Ga-MAA avec le contexte clinique (2, 3, 7, 46, 47, 55). Aucune n'a mis en évidence d'effets indésirables liés à l'administration des ^{68}Ga]Ga-MAA.

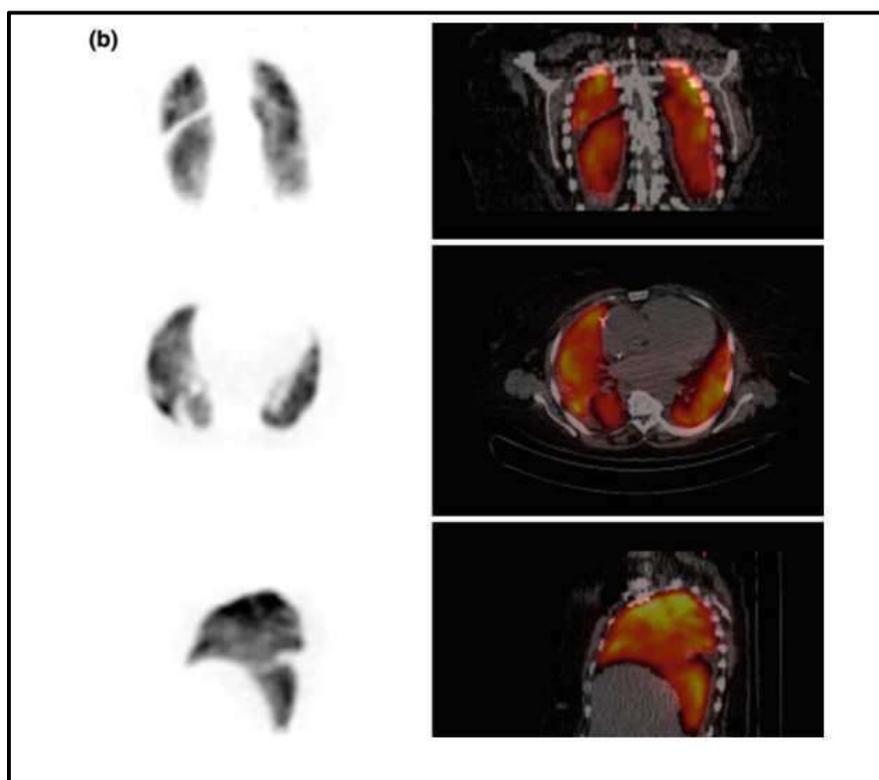


Figure 16 : Image TEP de perfusion pulmonaire chez un patient après injection de $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-MAA}$ (coupes coronales en haut, coupes transaxiales au milieu, coupes sagittales en bas). Des défauts sont visibles en latéral gauche et en projection sur la scissure horizontale du poumon droit. D'après Ament et al. *Recent Results Cancer Res.* 2013

Il est intéressant de souligner que parmi les quelques auteurs ayant procédé au marquage des MAA avec du ^{68}Ga pour administration à l'homme ou à l'animal, la plupart ont considéré que la conservation de la taille et de la structure des MAA après marquage était un gage de la conservation des propriétés pharmacologiques des MAA après marquage.

4. En synthèse

D'après les données de la littérature, la liaison du ^{68}Ga aux MAA pourrait se faire par 2 voies différentes :

L'utilisation d'un chélate bifonctionnel tel que le DTPA.

Le marquage direct par hydrolyse et précipitation de l'ion $^{68}\text{Ga}^{3+}$ en présence des particules d'albumine, ce qui est le cas lorsque le marquage est réalisé à partir d'une trousse commerciale de MAA. La nature de la liaison entre le $^{68}\text{Ga}^{3+}$ et les MAA n'est pas clairement connue mais un lien avec

les atomes donneurs d'électrons des acides aminés des MAA les plus exposés aux solvants semble l'hypothèse la plus probable.

La synthèse des [^{68}Ga]Ga-MAA comporte 4 points clés :

Le choix des MAA.

La pré-purification ou non de l'éluat de ^{68}Ga .

Les conditions de marquage : pH, température et temps de chauffage du milieu réactionnel.

La purification des [^{68}Ga]Ga-MAA.

Par ailleurs l'automatisation du procédé est également à considérer notamment pour le gain de temps et la radioprotection du personnel.

La plupart des synthèses décrites dans la littérature utilisaient des trousse commerciales de MAA conçues pour le marquage au $^{99\text{m}}\text{Tc}$. Le pré-traitement des MAA contenus dans la trousse préalablement au marquage (lavage des MAA pour retirer l'étain et l'albumine libre) ne semblait pas nécessaire.

De plus, les rendements de marquage obtenus avec des éluats de ^{68}Ga non pré-purifiés étaient tout à fait satisfaisants. Cette étape pourrait donc être omise.

Les conditions de marquages variaient légèrement selon les auteurs :

Le pH du milieu réactionnel était compris entre 4 et 6,5.

La température et le temps de chauffage variant entre 70 et 75°C pendant 7 à 20 min permettaient d'assurer un bon rendement de marquage tout en maintenant la structure des MAA.

L'étape de purification du produit fini assurait une bonne PRC. Elle était majoritairement effectuée par centrifugation, ce qui nécessitait une intervention manuelle augmentant le risque de contamination bactériologique de la préparation et d'irradiation du personnel.

La littérature a décrit peut de procédés de synthèse des [⁶⁸Ga]Ga-MAA automatisés et parmi eux aucun ne proposait une étape de purification automatisée.

Les synthèses dont les données ont été publiées permettent toutes de conserver la taille (10 – 90µm) et la structure des MAA qui sont 2 paramètres importants pour les propriétés pharmacologiques des [⁶⁸Ga]Ga-MAA.

Le maintien de ces paramètres qui sont les mêmes que ceux des [^{99m}Tc]Tc-MAA ont conduit différents auteurs à injecter le même nombre de particules (60 000 à 700 000) de [^{99m}Tc]Tc-MAA et de [⁶⁸Ga]Ga-MAA pour obtenir une répartition de l'activité uniforme et reflétant la perfusion pulmonaire régionale.

Les études de biodistribution chez le petit animal ont montré que plus de 80% de l'activité injectée était retrouvée dans les poumons jusqu'à 120 min après l'injection avec un maximum d'activité entre 10 et 20 min post injection. Excepté une faible captation dans le foie probablement liée à la présence de ⁶⁸Ga libre, aucune fixation n'a été observée dans d'autres organes.

Par ailleurs, moins de 10 % de ⁶⁸Ga libre était présent dans le pool vasculaire dont une partie était très probablement liée à la transferrine. Les [⁶⁸Ga]Ga-MAA ont donc été considérés comme stables *in vivo*.

Malgré de nombreuses études cliniques déjà menées chez l'homme dans des contextes cliniques divers (diagnostic de l'embolie pulmonaire versus angiographie, exploration de la fonction pulmonaire dans le cadre de cancers du sein, délinéation des volumes pulmonaires fonctionnels,...), aucune réelle étude de biodistribution n'a été menée chez l'homme. Cependant, une étude exploratoire réalisée avec 5 patients suspectés d'embolie pulmonaire cliniquement a montré une distribution des [⁶⁸Ga]Ga-MAA concordante avec la clinique.

A ce jour, aucune synthèse automatisée simplifiée au maximum et limitant le risque de contamination bactériologique de la préparation ainsi que l'irradiation de l'opérateur n'a été décrite dans la littérature (MAA commerciaux, pas de pré-purification des éluats, purification des MAA marqués automatisée).

V. Les médicaments radiopharmaceutiques de la ventilation

A. La scintigraphie de ventilation pulmonaire : l'aérosol de ^{99m}Tc -nanoparticules de carbone

1. Les propriétés des ^{99m}Tc -nanoparticules de carbone

Comme indiqué dans le tableau 7, les données de la littérature traitant des propriétés physiques des ^{99m}Tc -nanoparticules de carbone aérosolisées les ont décrites comme des particules primaires de forme à tendance hexagonale. Leur taille était comprise entre 7 et 60 nm et leur épaisseur était d'environ 5 nm (56-59). Pour certains auteurs, les nanoparticules avaient un ratio épaisseur : diamètre de 1 :10. Cependant, le procédé de production des ^{99m}Tc -nanoparticules de carbone étant similaire à celui des fullerènes, certains auteurs ont émis l'hypothèse que l'aérosol de ^{99m}Tc -nanoparticules de carbone serait au moins en partie composé de fullerènes (60, 61). En effet, dans une étude menée en 1994, Mackey *et coll.* ont montré la présence d'une gamme de fullerènes vaporisés dont les plus représentés comportaient 60 (C60) ou 70 (C70) atomes de carbone, produits durant le processus de production des ^{99m}Tc -nanoparticules de carbone aérosolisées. Ils ont alors conclu que ces fullerènes étaient disponibles pour former des métallofullerènes avec les atomes de technétium qui pourraient être placés soit à l'intérieur du Fullerène (endohédral) soit à la surface de celui-ci (exohédral) (Figure 17) (61).

Toutefois, cette hypothèse était controversée, notamment à cause de la forme et de la taille des nanoparticules de carbones qui, pour les plus petites, était de 7 nm alors que les fullerènes en C60 avaient un diamètre de 0,7 nm (56, 57, 61, 62).

	^{99m} Tc – nanoparticules de carbone primaires taille (nm)	Agrégats secondaires de ^{99m} Tc – nanoparticules de carbone taille (nm)	Diamètre médian (nm)	Epaisseur des ^{99m} Tc- nanoparticules de carbone (nm)	Forme et structure	Propriétés physiques
Burch <i>et al.</i> (1986)		≤ 5,0				
Strong <i>et al.</i> (1989)			140,0 ± 1,5			
Isawa <i>et al.</i> (1991)		≤ 200,0				
Lemb <i>et al.</i> (1993)	12,5 ± 1,65 (7 - 23)	118,0 (60-160)			Particules primaires de graphite à tendance hexagonale	Hydrophobes, inertes
Mackey <i>et al.</i> (1994)					Fullerènes	
Lloyd <i>et al.</i> (1995)		100,0 – 300,0	158,0 ± 1,5			
Senden <i>et al.</i> (1997)	30,0 – 60,0			5,0	Plaquettes hexagonales avec couches de graphite parallèles à la surface du Tc	Inertes biologiquement
Möller <i>et al.</i> (2006)	10,0	100,0-200,0				Propriétés hygroscopiques
Pourchez <i>et al.</i> (2013)	40,0 ± 2,9				Plaquettes hexagonales Tc métallique encapsulé avec une fine couche de carbone	Propriétés hygroscopiques

Tableau 7 : Taille, forme, structure et propriétés des ^{99m}Tc-nanoparticules de carbone selon les données de la littérature.

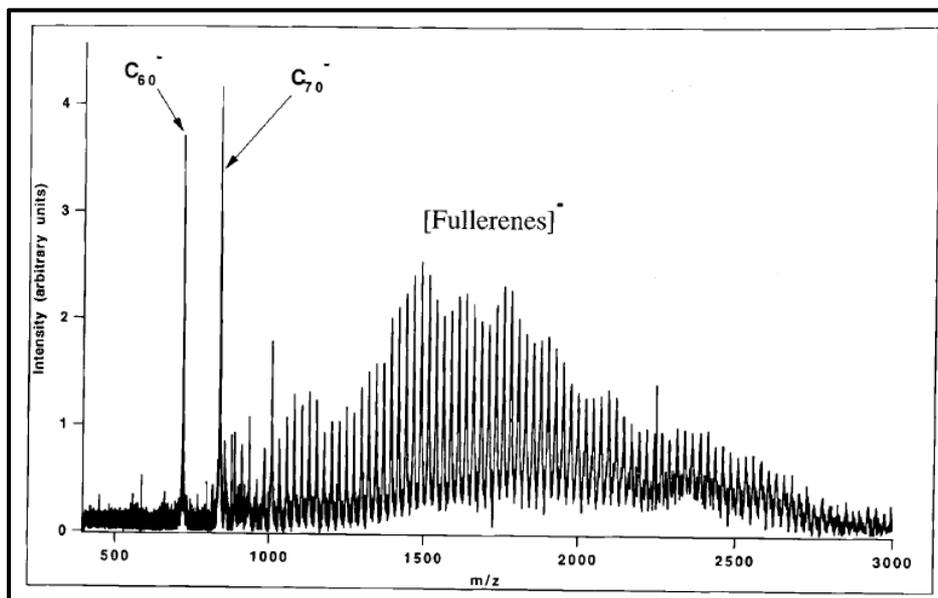


Figure 17 : Spectre de fullerènes collectés dans un générateur Technegas™ PLUS obtenu par spectrométrie de masse LDI-FT-ICR (Laser-Desorption – Ionisation-Fourier – Transform Ion-Cyclotron-Resonance). La puissance du laser est 1,5 kWcm⁻² et la longueur d'onde 1064 nm. D'après Mackey *et al.* *Nucl Med Commun.* 1994.

Il a été montré à plusieurs reprises que ces particules primaires étaient regroupées en agrégats secondaires ayant une taille comprise entre 100 et 300 nm (56, 58, 63) (Figure 18).

La présence d'agrégats était entre autre, liée à l'utilisation de pertechnétate de sodium ($^{99m}\text{TcO}_4^-$, Na^+) pour la préparation des ^{99m}Tc -nanoparticules de carbone. En effet, le Na^+ était cristallisé et vaporisé durant le processus de formation des nanoparticules de carbone. Les cristaux de sodium ainsi produits favorisaient la condensation des nanoparticules pour former des agrégats de taille plus importante (Figure 18) (57-59).

Concernant la structure des particules, plusieurs travaux ont suggéré que le graphite composant les nanoparticules formait des couches orientées parallèlement à la surface du ^{99m}Tc (tableau 7) (57, 59).

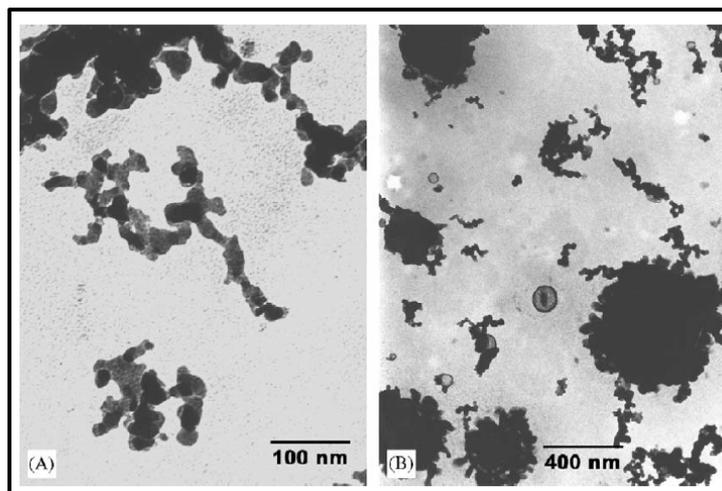


Figure 18 : Nanoparticules de carbone préparées avec du NaCl 0,9% uniquement (A) et ^{99m}Tc -nanoparticules de carbone (B) vues au microscope électronique en transmission. D'après Möller et al. *Aerosol Science*. 2006.

Comme leur structure, la nature du lien entre le ^{99m}Tc et les couches de graphite n'est pas très claire. D'après la littérature, le mécanisme de formation des nanoparticules semblait être le suivant : le $^{99m}\text{Tc}^{7+}$ issu du générateur de $^{99}\text{Mo}/^{99m}\text{Tc}$ serait réduit à l'état métal natif à la surface du creuset de graphite dans lequel l'éluat de ^{99m}Tc a été introduit, bien avant la production de l'aérosol. Au-delà de $2250 \pm 50^\circ\text{C}$, point de fusion du Tc, le ^{99m}Tc métal serait vaporisé et se condenserait avec les atomes de carbone (C) potentiellement présents sous la forme C_3 , pour former de fines particules hexagonales qui ne seraient pas toutes radiomarquées de manière égale (57-59).

La composition des ^{99m}Tc -nanoparticules de carbone avec notamment leur fine couche de carbone leur confèrerait des propriétés hydrophobes et d'inertie favorisant ainsi une distribution stable dans les poumons (56-59). Par ailleurs, du fait de l'utilisation d'un éluat composé majoritairement de NaCl pour les générer, les nanoparticules de carbone auraient également des propriétés hygroscopiques (58, 59). En revanche, un taux de relargage du ^{99m}Tc supérieur à 10% les rendrait inutilisables pour les études de clairance pulmonaire (58, 59).

2. Préparation des ^{99m}Tc -nanoparticules de carbone

La préparation de l'aérosol de ^{99m}Tc -nanoparticules de carbone est un procédé simple.

Le matériel nécessaire se résume à :

Un générateur de Technegas® (Figure 19).

Un creuset de graphite d'une contenance de 0,14 à 0,30 mL (Figure 19).

Un kit d'administration au patient (Figure 19).

Le principe général de production des ^{99m}Tc -nanoparticules de carbone aérosolisées consiste à introduire un éluat de ^{99m}Tc dans le creuset de graphite, évaporer à sec l'éluat puis chauffer à 2550°C sous atmosphère saturée en argon pur.

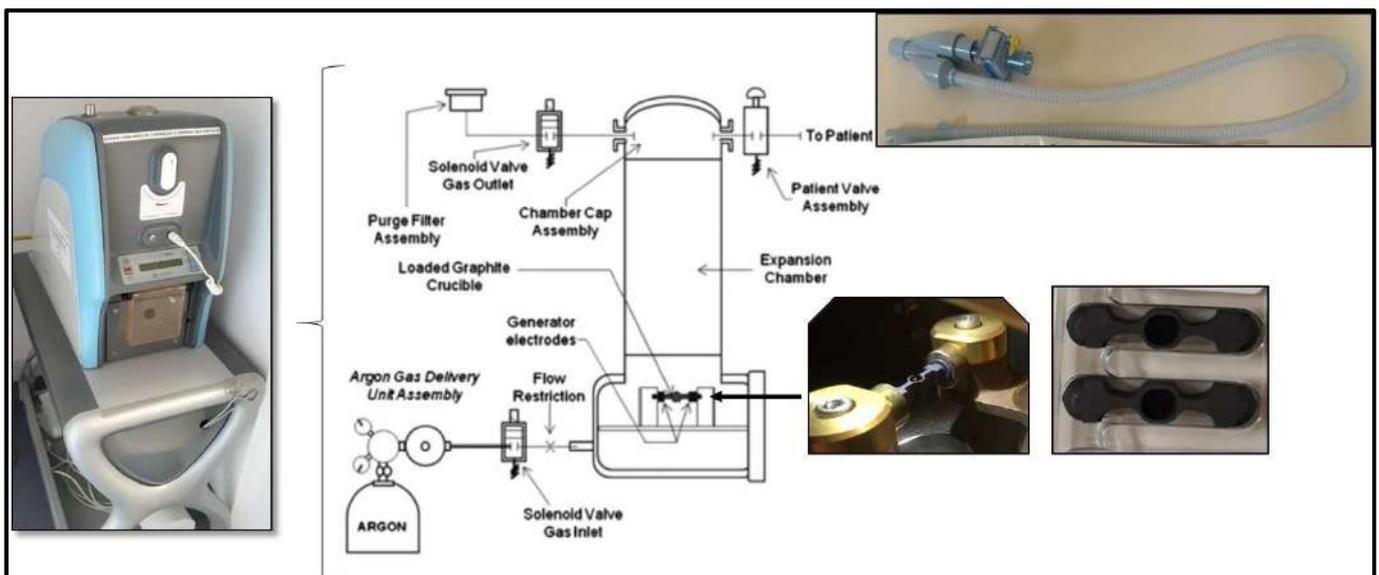


Figure 19 : Matériel nécessaire à la préparation et à l'administration de l'aérosol de ^{99m}Tc -nanoparticules de carbone (technegas). Schéma du générateur Technegas™ PLUS d'après Pourchez et al. *Journal of Aerosol Science*. 2013.

Cette préparation comporte 4 étapes.

- Le chargement du creuset avec le $^{99m}\text{TcO}_4^-$, Na^+ issu d'un générateur de $^{99}\text{Mo}/^{99m}\text{Tc}$. 0,14 à 0,30 mL (140 – 925 MBq) de pertechnétate de sodium est introduit dans le creuset de graphite préalablement humidifié avec de l'éthanol à 99% pour augmenter sa mouillabilité et placé entre les électrodes du générateur de Technegas™PLUS (figure 19).
- La phase d'évaporation ou « simmer stage » qui suit le chargement du creuset. Durant cette phase, le creuset de graphite est chauffé 6 min à 70°C sous une atmosphère d'argon pur. Le $^{99m}\text{Tc}^{7+}$ est alors réduit à la surface du creuset sous la forme de ^{99m}Tc métallique (57, 64). Lors de cette phase, il est possible de procéder à un nouveau chargement du creuset pour augmenter la quantité de radioactivité disponible pour le marquage des nanoparticules de carbone. Cependant, il a été montré que la taille des nanoparticules augmentait avec le nombre de « simmer stage », probablement en lien avec l'augmentation de la quantité de chlorure de sodium (NaCl) (63). Il peut donc être préférable de limiter le nombre de chargement afin de conserver la taille des nanoparticules.

Par ailleurs, l'atmosphère saturée en argon pur est très importante. En effet, il a été montré que l'introduction de ne serait-ce que 0,2% d'oxygène (O_2) dans le générateur Technegas™PLUS lors de la production modifiait les propriétés des ^{99m}Tc nanoparticules générées même si leur taille restait identique à celles des nanoparticules produites sous atmosphère d'argon pur. En effet, l' O_2 pourrait réagir avec les C vaporisés pour former des monoxydes ou dioxydes de carbone empêchant leur condensation et produisant ainsi des ^{99m}Tc -nanoparticules de carbone solubles du fait de l'absence de la fine couche de carbone pour « protéger » le ^{99m}Tc (63, 65-68).

- La phase de combustion ou « burning stage » pendant laquelle, le creuset de graphite est chauffé à $2550 \pm 50^\circ\text{C}$ pendant 15s. Au-delà de 2550°C , point de fusion du Tc, le Tc métallique est vaporisé de manière concomitante à la sublimation du carbone qui existe alors largement

sous la forme C_3 (57). Les ^{99m}Tc -nanoparticules de carbone aérosolisées sont ainsi formées par co-condensation du ^{99m}Tc métallique et du carbone (57, 59, 64).

- A la fin de la phase de combustion, le générateur Technegas™ PLUS est éteint entraînant un refroidissement de la chambre d'expansion de 6L qui contient l'aérosol disponible pour l'administration au patient. L'activité retenue à la surface du creuset de graphite une fois la production terminée représente 25% de l'activité initialement chargée. Par ailleurs, seulement la moitié de l'aérosol produit sera disponible pour administrer au patient, le reste s'étant adsorbé sur les parois de la chambre durant les 3 min de refroidissement (57). Une fois l'aérosol généré, le générateur autorise une fenêtre de 10 min pour l'administration au patient. Cependant, il a été montré que plus le temps entre la fin de la production et l'administration est long et plus la taille des particules qui ont tendance à s'agglomérer est importante (57, 59, 63, 69). Il est donc préférable d'administrer l'aérosol immédiatement après sa production.

3. Données pharmacologiques des ^{99m}Tc -nanoparticules de carbone aérosolisées.

Du fait de leur taille soit 7 à 60 nm pour les particules primaires et quelques centaines de nm pour les agrégats secondaires, les ^{99m}Tc -nanoparticules de carbone aérosolisées sont considérées comme un aérosol ultrafin ayant des propriétés similaires aux gaz tels que le krypton 81m (^{81m}Kr) ou le xenon 133 (^{133}Xe) pour la scintigraphie de ventilation pulmonaire (32, 58, 60, 66, 70-72).

Il a été montré que les particules de 5nm et plus se déposaient majoritairement dans le parenchyme pulmonaire alors que les particules plus petites se déposaient préférentiellement dans la région trachéo-bronchique (69). Ainsi, d'après certains auteurs, la distribution de taille des ^{99m}Tc -nanoparticules de carbone permettrait un dépôt à 37% dans les alvéoles pulmonaires et 5% dans les voies bronchiques à conditions que l'administration soit bien réalisée (63).

Les données de la littérature mentionnaient également que 70 min après leur inhalation, le taux de rétention des ^{99m}Tc -nanoparticules de carbone restait supérieur à 95% de l'activité initiale à la fois chez des sujets sains mais également chez des patients atteints de diverses maladies pulmonaires (73).

En 1986, Burch, inventeur du générateur Technegas™ PLUS, et ses collaborateurs ont mesuré un index moyen de pénétration tel que défini par Agnew et al. de 1,3 (0,88 – 2,22) indiquant ainsi qu'après inhalation, les ^{99m}Tc -nanoparticules de carbone se logeaient dans les petites voies aériennes et les alvéoles. Cette observation a été confirmée par Isawa et al., qui en 1991, ont trouvé un ratio moyen de dépôt alvéolaire de $86,6 \pm 0,7\%$ chez des sujets sains 24h après l'inhalation (60, 73, 74).

L'indice de pénétration défini par Agnew et al. en 1981 correspondait au rapport entre le dépôt périphérique et le dépôt central d'un aérosol en se basant sur la proportion de particules retenues dans les poumons 24h après l'administration. L'évaluation était faite soit de manière visuelle à partir des images de scintigraphie soit par l'analyse informatique de l'inhomogénéité de ces mêmes images (74).

Par ailleurs, Burch et al., ont déterminé la période effective de l'aérosol de ^{99m}Tc -nanoparticules de carbone dans les poumons à 335 min (302 – 642 min) pour une période physique de 361 min.

Ces observations étaient concordantes avec les propriétés d'inertie et de stabilité des nanoparticules liées à leur structure et signaient une clairance mucociliaire faible de l'aérosol (15% de l'activité totale déposée) (32, 60, 70). Pour certains auteurs, la nature physique des nanoparticules permettait d'éviter leur passage sanguin après dépôt dans les alvéoles pulmonaires (61). Cependant une étude menée sur 5 patients sains a conclu le contraire en montrant la présence de ^{99m}Tc sanguin après inhalation de technegas. Le ^{99m}Tc avait alors été considéré comme étant lié à des nanoparticules de carbone bien qu'une analyse par microscopie électronique des échantillons de sang n'avait pas permis de mettre en évidence la présence des nanoparticules de carbone (75). Par la suite, il a été montré qu'environ 10% du ^{99m}Tc lié aux nanoparticules de carbone était libéré et pouvait donc passer au niveau sanguin (58).

Par rapport aux autres traceurs de la ventilation pulmonaire, une étude clinique comparant de manière intra-individuelle le ^{99m}Tc -DTPA aérosolisé et les ^{99m}Tc -nanoparticules de carbone aérosolisées chez 65 patients suspectés cliniquement d'embolie pulmonaire a montré une distribution plus homogène des ^{99m}Tc -nanoparticules de carbone aérosolisées avec moins de dépôts focaux dans les voies aériennes (larges et plus étroites) qu'avec le ^{99m}Tc -DTPA (72).

Similairement, une étude comparant l'utilisation du ^{81m}Kr à celles utilisant des ^{99m}Tc -nanoparticules de carbone chez des patients sains, n'a pas montré de différence significative de distribution du gaz et de l'aérosol (rapport entre l'activité dans la partie concernée et l'activité totale dans les poumons) dans le poumon droit ou le poumon gauche dans leur totalité. En revanche, toujours chez le sujet sain, les deux traceurs ont montré des différences de répartition au sein d'un même poumon. De plus, chez les personnes atteintes de maladies pulmonaires, les 2 traceurs avaient des répartitions différentes à la fois dans les poumons droit et gauche dans leur totalité mais également dans les régions d'un même poumon. Globalement, chez les patients sains de cette étude, l'aérosol de ^{99m}Tc -nanoparticules de carbone montrait un taux de distribution plus important dans le tiers inférieur du poumon gauche comparativement au ^{81m}Kr qui lui, était présent en quantité plus importante dans le tiers supérieur du poumon droit (Figure 20) (70).

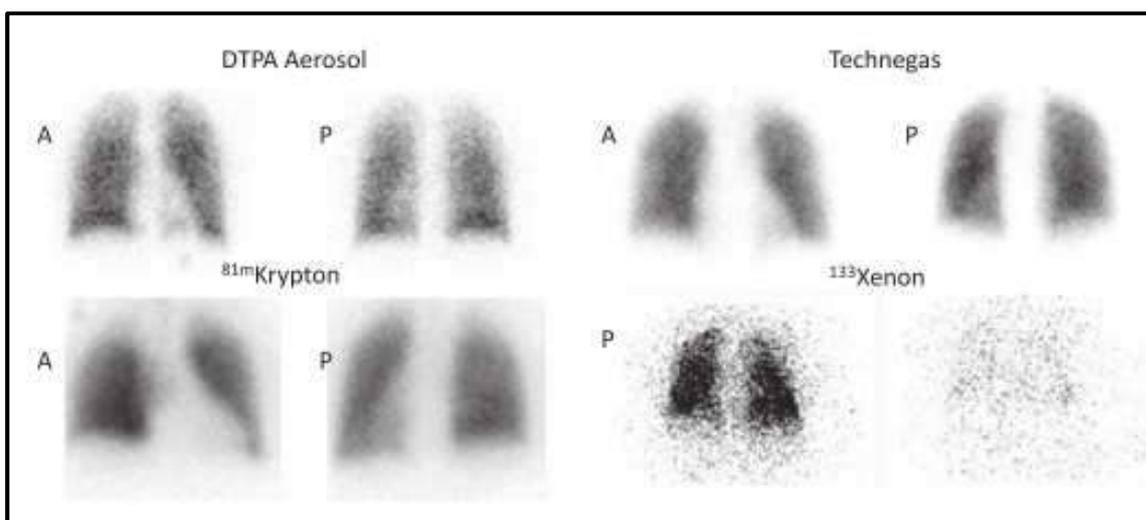


Figure 20 : Scintigraphies planaires de ventilation chez des patients sains. A : projections antérieures, P : projections postérieures. D'après Schembri et al. *Semin. Nucl. Med.* 2015

4. En synthèse

L'aérosol de ^{99m}Tc -nanoparticules de carbone est composé de fines particules de forme hexagonale et de taille comprise entre 7 et 60 nm pouvant se regrouper en agrégats secondaires de taille comprise entre 100 et 300 nm.

Le ^{99m}Tc réduit à l'état métal natif au début du procédé de production est recouvert par de fines couches de carbone orientées parallèlement les unes aux autres.

La possible présence de fullerènes dans l'aérosol de nanoparticules a été plusieurs fois évoquée dans la littérature mais elle reste controversée.

La préparation et l'administration d'un aérosol de ^{99m}Tc -nanoparticules de carbone est relativement simple (figure 21).

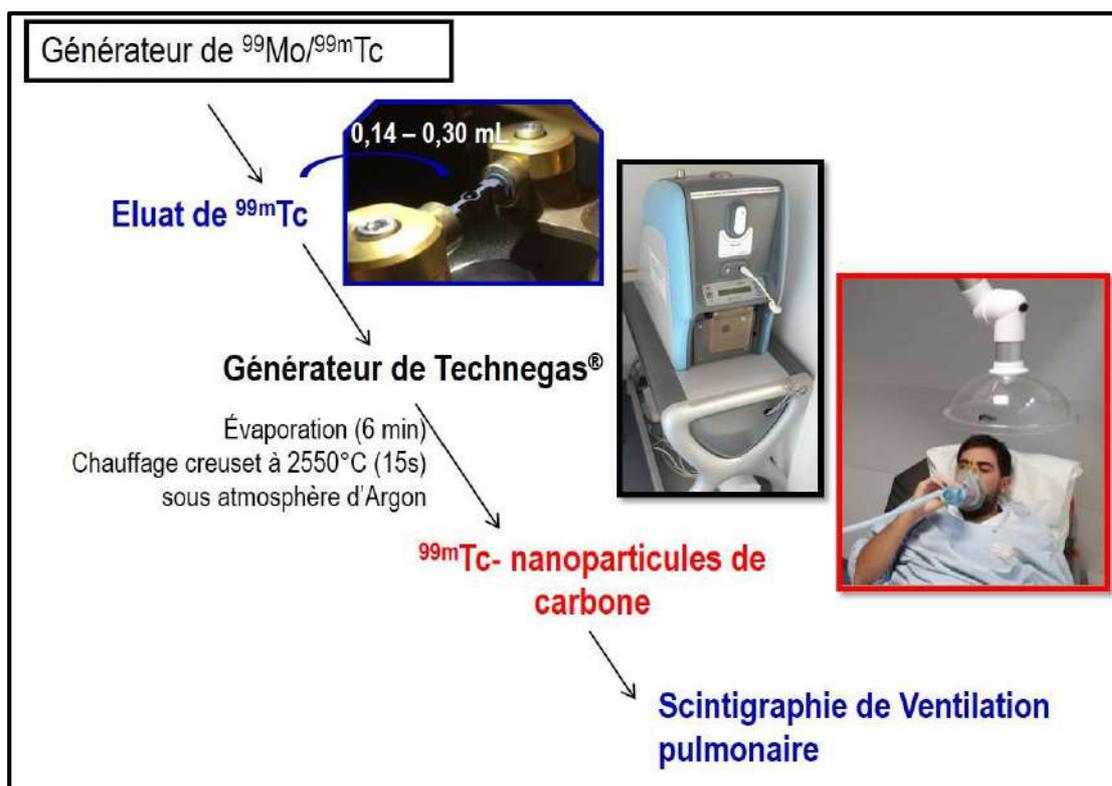


Figure 21 : Déroulement de la préparation et de l'administration d'un aérosol de ^{99m}Tc -nanoparticules de carbone.

La production de l'aérosol se fait en 4 phases résumées dans la figure 22.

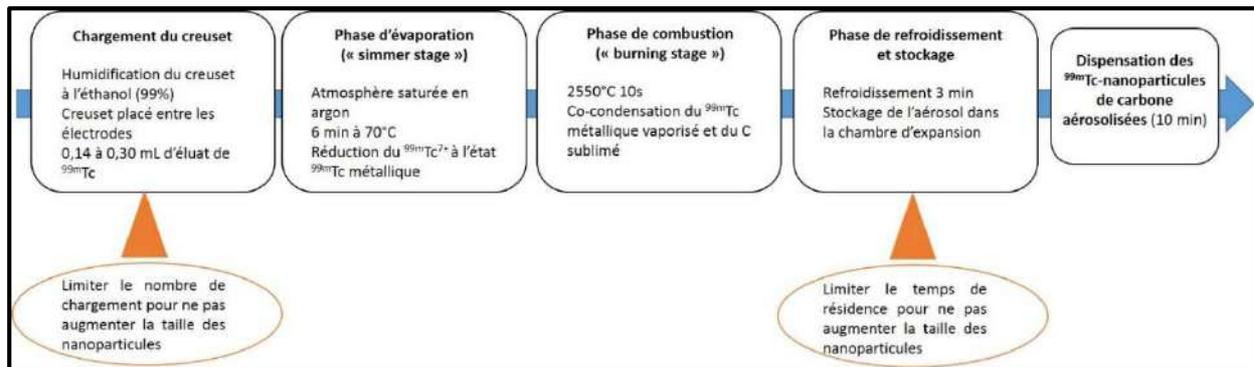


Figure 22 : Résumé des différentes phases de préparation d'un aérosol de ^{99m}Tc -nanoparticules de carbone.

La petite taille des ^{99m}Tc -nanoparticules de carbone aérosolisées a conduit à les considérer comme un aérosol ultrafin avec des propriétés similaires à celles des gaz radioactifs.

Après inhalation, ces particules se déposent majoritairement dans les alvéoles pulmonaires (> 85% 24h après l'inhalation) où leur stabilité et leurs propriétés leur confèrent une période effective de 335 min et une faible clairance mucociliaire (15% de l'activité déposée).

Leur distribution dans les poumons de sujets sains est plus homogène que celle d'un aérosol de ^{99m}Tc -DTPA avec moins de points focaux.

Par ailleurs, si la répartition globale au sein du poumon droit ou gauche ne montre pas de différence significative avec celle du ^{81m}Kr chez un sujet sain, la répartition au niveau des différentes régions d'un même poumon est significativement différente de celle du ^{81m}Kr .

On notera qu'en l'absence d'étude de biodisponibilité, il a été considéré que les propriétés de taille et de forme des ^{99m}Tc -nanoparticules de carbone étaient garantes de leurs propriétés pharmacologiques.

B. La TEP de ventilation pulmonaire : l'aérosol de ^{68}Ga -nanoparticules de carbone

1. Les propriétés de ^{68}Ga -nanoparticules de carbone

Quelques études cliniques utilisant les ^{68}Ga -nanoparticules de carbone ont été menées dans des pays où la réglementation n'exigeait pas de déterminer précisément les propriétés physico-chimiques de ce traceur avant de pouvoir l'utiliser chez l'animal ou chez l'homme, ce type de données n'a donc jamais été publié (1, 2, 76).

Les propriétés physico-chimiques étant un facteur déterminant pour la pénétration, le dépôt et la rétention de ces particules dans le tractus respiratoire, l'hypothèse selon laquelle les ^{68}Ga -nanoparticules de carbone auraient des propriétés très proches voire identiques à celles $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -nanoparticules de carbone semblait probable.

Cette hypothèse était renforcée par le fait que le procédé de préparation des 2 types de nanoparticules de carbone était identique, ce qui a conduit certains auteurs à considérer que les nanoparticules marquées au ^{68}Ga étaient composées de ^{68}Ga à l'état métal recouvert de couches de graphite qui permettaient de l'isoler de son environnement (77). D'autres auteurs ont supposé que le $^{68}\text{Ga}^{3+}$ s'adsorbait aux particules de carbone durant le procédé de préparation (78).

Par ailleurs, d'après les données de la littérature, les nanoparticules marquées au $^{99\text{m}}\text{Tc}$ et au ^{68}Ga avaient toutes les deux un taux de relargage dans l'eau froide avoisinant les 15% témoignant une fois encore d'une probable similarité de certaines propriétés (46).

Cependant, aucune étude des propriétés physicochimiques des nanoparticules n'a permis de confirmer ces hypothèses.

2. Préparation des ^{68}Ga -nanoparticules de carbone

Contrairement à la synthèse des $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-MAA}$ qui est plus complexe que celle des $[^{99\text{m}}\text{Tc}]\text{Tc-MAA}$ du fait notamment du nombre d'étapes plus important, la préparation des ^{68}Ga -nanoparticules de carbone décrite dans la littérature était semblable en tout point à celle des $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -nanoparticules de

carbone aérosolisées. Le seul point divergeant était l'éluat utilisé qui était dans ce cas, un éluat de ^{68}Ga au lieu de l'éluat de $^{99\text{m}}\text{Tc}$.

Ainsi, la préparation de cet aérosol était effectuée avec un générateur de Technegas™ PLUS. Les différentes étapes de la préparation étaient les suivantes :

Le chargement du creuset de graphite avec 0,14 à 0,30 mL d'éluat de ^{68}Ga .

La phase d'évaporation durant laquelle le creuset était chauffé 6 min à 70°C sous atmosphère d'argon pur.

La phase de combustion qui correspondait au chauffage du creuset à $2550 \pm 50^\circ\text{C}$ pendant 15s.

Le refroidissement de la chambre d'expansion.

Bien que la réaction chimique de marquage des nanoparticules de carbone par le ^{68}Ga ne soit pas connue, ce procédé de production des ^{68}Ga -nanoparticules de carbone aérosolisées a déjà été utilisé avec succès par plusieurs équipes (1, 46, 76, 77, 79). Toutes ont conservé les mêmes paramètres de réglage que pour la production des $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -nanoparticules de carbone aérosolisées. Le seul facteur pouvant différer d'une équipe à l'autre se situait au niveau du pré-traitement de l'éluat de ^{68}Ga .

En effet, notamment du fait de la composition de l'éluat de ^{68}Ga qui était principalement constitué d'HCl (acide chlorhydrique) 0,1N, certains auteurs ont procédé à une pré-concentration de l'éluat de ^{68}Ga en utilisant une cartouche anionique ou en fractionnant l'élution à des fins de purification et de concentration (46, 77). La période du ^{68}Ga étant courte (67,7 min), la pré-concentration permettait d'augmenter l'activité spécifique des nanoparticules. Cependant, plusieurs équipes ont utilisé un éluat sans pré-purification et ont tout de même obtenu un aérosol similaire à celui de $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -nanoparticules de carbone utilisé pour la scintigraphie de ventilation pulmonaire (1, 76).

La préparation des ^{68}Ga -nanoparticules de carbone semble donc un procédé simple équivalent à la préparation des $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -nanoparticules de carbone.

3. Données pharmacologiques des ^{68}Ga -nanoparticules de carbone

Peu de données concernant les propriétés pharmacologiques des ^{68}Ga -nanoparticules de carbone aérosolisées sont disponibles dans la littérature.

Cependant, une étude comparant les 2 types de nanoparticules de carbone, celles marquées au $^{99\text{m}}\text{Tc}$ avec celles marquées au ^{68}Ga chez 14 porcelets a montré la même distribution pulmonaire homogène des 2 traceurs chez les sujets sains (figure 23). Chez les porcelets atteints d'obstruction lobaire, l'absence de ventilation du lobe inférieur était clairement visible avec les 2 types de nanoparticules de carbone (figure 24) (77).

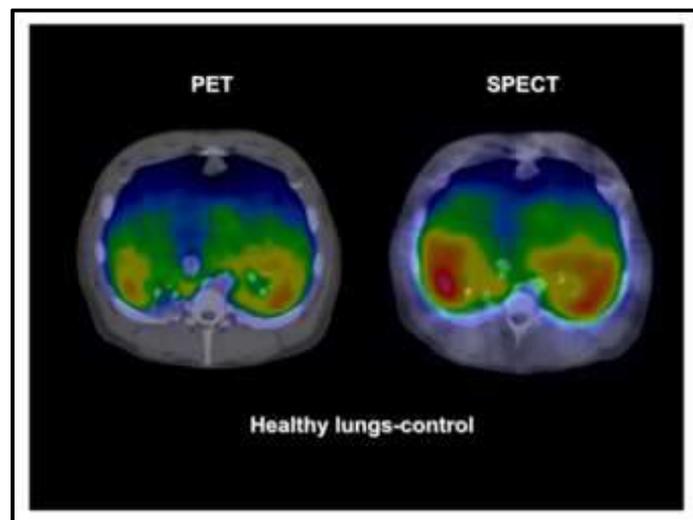


Figure 23 : TEP/TDM (PET) au ^{68}Ga et scintigraphie (SPECT) au $^{99\text{m}}\text{Tc}$ de ventilation pulmonaire chez un porcelet sain. Les images de ventilation TEP et scintigraphique sont similaires. D'après Borges et al. *J Nucl Med*. 2011.

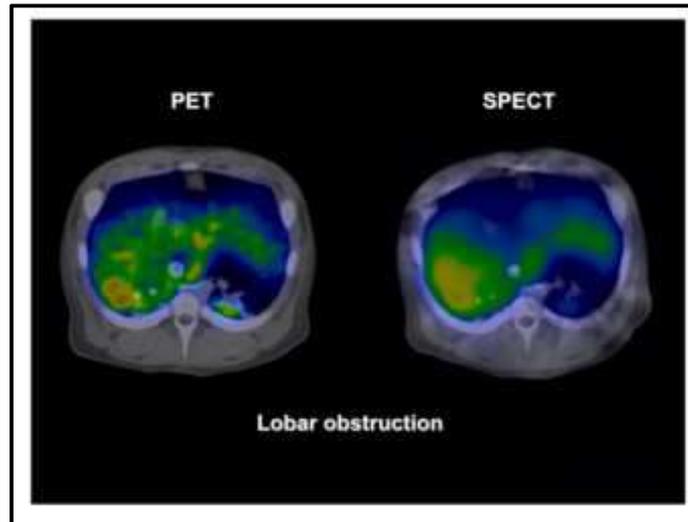


Figure 24 : TEP/TDM (PET) au ^{68}Ga et scintigraphie (SPECT) au $^{99\text{m}}\text{Tc}$ de ventilation pulmonaire chez un porcelet ayant une obstruction lobaire inférieure. La capacité des 2 traceurs à mettre en évidence l'absence de ventilation au niveau du lobe inférieur est similaire. D'après Borges et al. *J Nucl Med*. 2011.

Par ailleurs la complète incorporation de ^{68}Ga -nanoparticules de carbone aérosolisées dans les poumons d'un rat « Sprague-Dawley » sans activité extrapulmonaire (abdomen, vessie, pool sanguin) a été démontrée dans une étude menée en 2013 (Figure 25) (46).

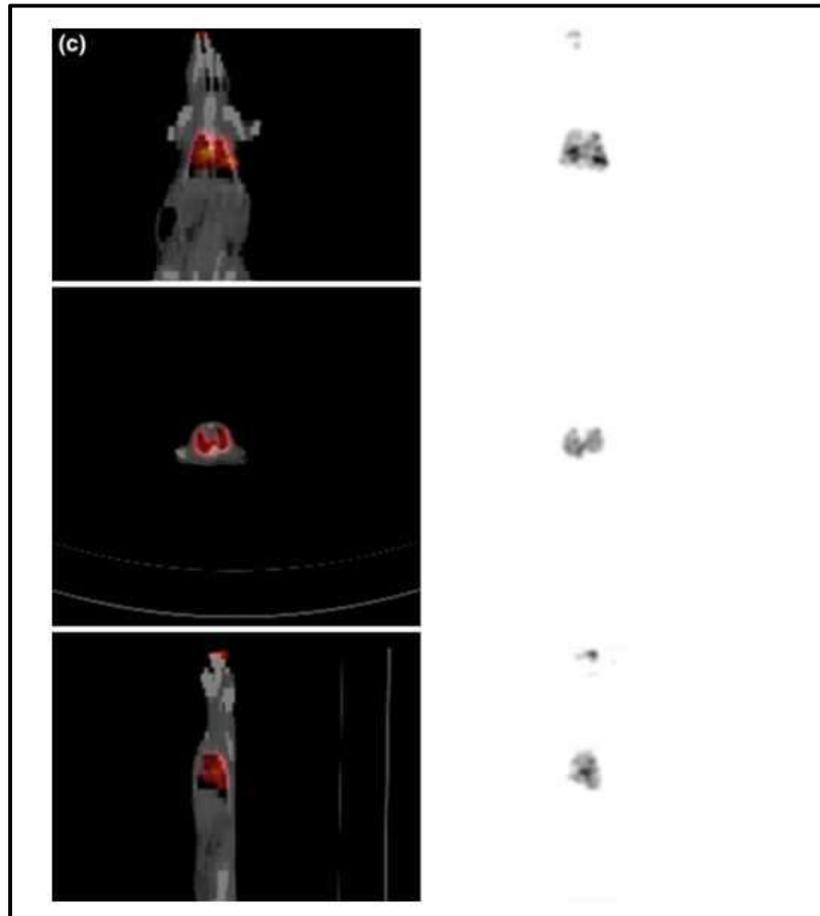


Figure 25 : Image de TEP de ventilation pulmonaire chez un rat Sprague Dawley réalisées suite à l'inhalation de ^{68}Ga -nanoparticules de carbone. D'après Ament et al. *Recent Results Cancer Res.* 2013

Parallèlement, des TEP de ventilation pulmonaire avec des ^{68}Ga -nanoparticules de carbone ont été réalisées chez l'homme dans le cadre d'études cliniques. Ainsi, l'administration de ^{68}Ga -nanoparticules de carbone par inhalation chez 2 patients volontaires sains a montré une intense captation du traceur dans les poumons sans dépôt au niveau bronchique 15 min après l'administration. Les images réalisées 3,5h post inhalation ont mis en évidence une persistance du médicament radiopharmaceutique (MRP) dans les poumons avec des traces d'activité dans la vessie et aucune radioactivité dans le pool sanguin ou l'abdomen (Figure 26) (76).

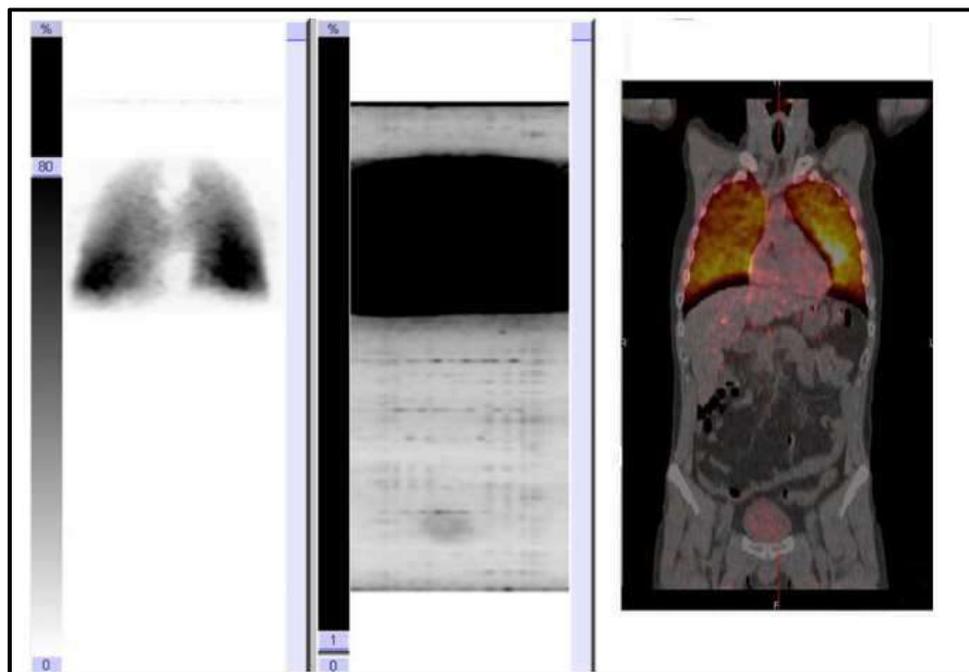


Figure 26 : Image TEP/TDM corps entier fusionnée au scanner 3,5 h après l'inhalation de ^{68}Ga -nanoparticules de carbone chez un sujet sain. Les poumons sont les seuls organes à capter le traceur. Une très faible excrétion urinaire est visible. D'après Kotzerke et al. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2010.

Par ailleurs, lors d'une étude exploratoire réalisée chez 5 patients suspectés cliniquement d'embolie pulmonaire, une distribution homogène du traceur dans les poumons a été observée chez 2 des 5 patients alors que pour les 3 autres atteints de troubles ventilatoires obstructifs sévères ou ayant un infiltrat pulmonaire, la distribution était non homogène avec un dépôt central et périphérique du MRP (46).

Enfin, de la même manière que pour les ^{68}Ga]-Ga-MAA, bien qu'aucune étude de biodistribution au sens strict du terme n'ait été réalisée chez l'homme, les ^{68}Ga -nanoparticules de carbone aérosolisées ont déjà été administrées à l'homme dans le cadre de plusieurs études cliniques menées dans des contextes divers sans qu'aucun effet indésirable notoire n'ait été signalé (1-3, 46).

En raison de l'absence de données concernant les propriétés physico-chimiques des ^{68}Ga -nanoparticules de carbone dans la littérature, leur biodistribution n'a pas pu être extrapolée comme cela avait été le cas avec les $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -nanoparticules de carbone aérosolisées.

4. En synthèse

Les propriétés physico chimiques des ^{68}Ga -nanoparticules de carbone n'ont jamais été étudiées. Quelques principes généraux ont été déduits du procédé de fabrication identique à celui des $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -nanoparticules de carbone et des images obtenues chez l'animal et l'homme après l'inhalation des nanoparticules marquées au ^{68}Ga .

Le procédé de préparation décrit dans la littérature était en tout point identique à celui des $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -nanoparticules de carbone aérosolisées à l'exception de la nature de l'éluat utilisé. Il nécessitait un générateur de Technegas™ PLUS et un creuset de graphite et comportait 4 étapes : (1) le chargement du creuset, (2) la phase d'évaporation, (3) la phase de combustion, (4) la phase de refroidissement de la chambre d'expansion. L'éluat de ^{68}Ga introduit dans le creuset pouvait être pré-purifié ou non. L'intérêt clinique d'une pré-purification n'a pas été démontré à ce jour.

Aucune étude de biodistribution n'est disponible dans la littérature. Cependant, les études réalisées chez l'animal et l'homme ont montré que les ^{68}Ga -nanoparticules de carbone aérosolisées se localisaient très majoritairement au niveau des poumons après inhalation, sans passage dans le pool sanguin ou au niveau de l'abdomen. Une légère fixation a été observée au niveau de la vessie à des temps plus tardifs.

Chez les patients sains, la distribution pulmonaire était homogène alors qu'une distribution non homogène et un dépôt central et périphérique ont pu être observés chez les patients présentant des pathologies pulmonaires.

L'étude des propriétés physico-chimiques des ^{68}Ga -nanoparticules de carbone permettraient donc de valider l'équivalence des $^{99\text{m}}\text{Tc}$ et ^{68}Ga -nanoparticules de carbone d'un point de vue pharmacologique.

VI. La dosimétrie de l'imagerie nucléaire pulmonaire

A. La dosimétrie patient

Il existe peu de données dans la littérature concernant la dosimétrie des patients bénéficiant d'une TEP de ventilation/perfusion pulmonaire au ^{68}Ga .

Une première étude a évalué la dose absorbée par les poumons chez des patients atteints d'embolie pulmonaire ayant bénéficié d'une TEP pulmonaire au ^{68}Ga . En moyenne, les patients avaient inhalé 6 MBq de ^{68}Ga -nanoparticules de carbone aérosolisées (après correction de la décroissance) et avaient été injectés avec 70,4 MBq de ^{68}Ga]Ga-MAA. Les calculs de dosimétrie ont été effectués avec le logiciel OLINDA (version 1.1, Vanderbilt University, 2007) à partir des images TEP. Comme indiqué dans le tableau 8, la dose absorbée par les poumons dans ces conditions était de 0,70170 mSv/MBq pour la perfusion et 0,85000 mSv/MBq pour la ventilation (46).

Une seconde étude s'est intéressée uniquement à l'administration des ^{68}Ga]Ga-MAA. Les résultats de dose corps entier et de dose absorbée par organe ont été obtenus par extrapolation des résultats d'une étude de biodistribution réalisée sur des rats « wild type » grâce à la méthode Sparks et Aydogan. L'extrapolation a été effectuée pour des activités administrées de ^{68}Ga]Ga-MAA de 185 MBq. Les doses obtenues pour la TEP ont été comparées aux doses issues de la CIPR (Commission Internationale pour la Protection Radiologique) 80 estimées pour des activités administrées de 185 MBq de $^{99\text{m}}\text{Tc}$]Ga-MAA (80).

Les résultats de doses absorbées par organe sont présentés dans le tableau 8 pour les organes qui absorbent les doses les plus importantes. Dans cette étude, les auteurs ont démontré que les doses absorbées par les organes hors poumons, étaient plus faibles pour la TEP de perfusion pulmonaire que pour la scintigraphie de perfusion pulmonaire (figure 27). En revanche, la dose absorbée par les poumons était 2 fois supérieure lors de la TEP de perfusion pulmonaire que lors de la scintigraphie aux $^{99\text{m}}\text{Tc}$]Tc-MAA, engendrant ainsi une dose corps entier de 4,31 mSv pour la TEP contre 2,04 mSv pour la scintigraphie dans les conditions de l'étude (= 185 MBq de MRP injecté) (80).

Dose absorbée / activité injectée (mSv/MBq) chez l'adulte					
	[^{99m} Tc]Tc-MAA (CIPR 80)	[⁶⁸ Ga]Ga-MAA (Ament 2013)	[⁶⁸ Ga]Ga-MAA (Shanehsazzadeh 2015)	^{99m} Tc-nanoparticules de carbone (CIPR 80)	⁶⁸ Ga- nanoparticules de carbone (Ament 2013)
Poumons	0,06600	0,70170	0,13500	0,11000	0,85000
Surrénales	0,00680		0,00192		
Foie	0,01600		0,00105		
Rate	0,00410		0,00292		
Pancréas	0,00560		0,0014		
Paroi vésicale	0,00870		0,00121		
Reins	0,00370		0,00301		

Tableau 8 : Doses absorbées par les organes par activité injectée en mSv/MBq : comparatif des valeurs de la littérature pour les TEP de ventilation/perfusion au ⁶⁸Ga et des valeurs de la CIPR pour la scintigraphie de ventilation/perfusion au ^{99m}Tc.

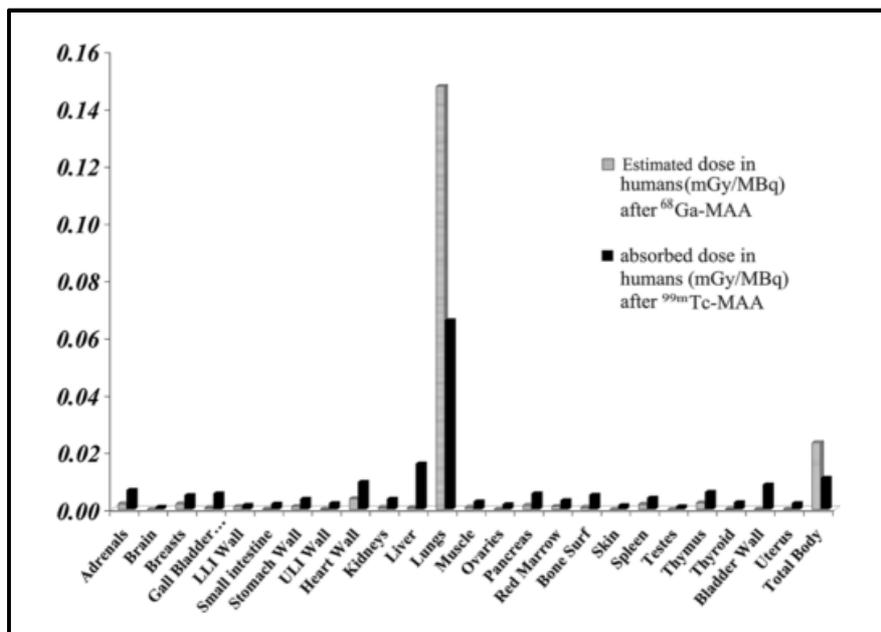


Figure 27 : Comparaison des doses aux organes chez l'humain estimées par extrapolation après administration de 185 MBq de [⁶⁸Ga]Ga-MAA aux doses aux organes basées sur les données de la CIPR 80 après administration de 185 MBq de [^{99m}Tc]Tc-MAA. D'après Shanehsazzadeh et al. *Ann Nucl Med.* 2015.

B. La dosimétrie des travailleurs

Le ⁶⁸Ga étant un émetteur β⁺, il est légitime de penser que sa manipulation est plus irradiante pour le personnel que celle du ^{99m}Tc, émetteur γ. Des données comparant la dosimétrie des travailleurs manipulant des émetteurs γ à celle des personnels utilisant des émetteurs β⁺ sont disponibles dans la littérature. Cependant, il est plus difficile de trouver des informations traitant spécifiquement de la

scintigraphie pulmonaire et à notre connaissance, aucune donnée sur la TEP pulmonaire au ^{68}Ga n'est disponible.

Certains auteurs ont mentionné des valeurs de dosimétrie corps entier comprises entre $0,4 \pm 0,2 \mu\text{Sv}$ (activité injectée de 111 MBq) et $1,1 \pm 1,2 \mu\text{Sv}$ (activité injectée de 185 MBq) pour un manipulateur en électroradiologie médicale (MERM) prenant en charge un patient pour une scintigraphie planaire de perfusion pulmonaire aux $^{99\text{m}}\text{Tc}$]Tc-MAA, de son arrivée dans le service jusqu'à la fin de son examen (préparation de la seringue y compris) (81, 82). Le peu de données disponibles sur l'exposition interne d'un MERM réalisant une scintigraphie de ventilation pulmonaire avec des $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -nanoparticules de carbone aérosolisées étaient très hétérogènes puisqu'elles s'étaient de $0,002 \mu\text{Sv}$ dans un cas et $0,17 \mu\text{Sv}$ dans l'autre (83, 84).

Une étude évaluant la dosimétrie aux extrémités des personnels de médecine nucléaire prenant en charge des patients bénéficiant d'une TEP au ^{68}Ga]Ga-DOTANOC (de l'injection à la fin de l'examen) a trouvé des valeurs de $1,26 \pm 0,3 \text{ mSv}$ à l'annulaire gauche et de $1,03 \pm 0,13 \text{ mSv}$ à l'annulaire droit (85).

Globalement, les différentes publications s'accordaient pour conclure que la dose corps entier du personnel de médecine nucléaire prenant en charge les patients de leur arrivée dans le service à leur sortie (sans compter la préparation des MRP) était de 1,5 à 3,7 fois plus élevée avec des MRP émetteurs de β^+ qu'avec des MRP émetteurs γ (81, 82, 86, 87).

C. En synthèse

Alors que les données de la dosimétrie patient liée à la réalisation d'une scintigraphie pulmonaire sont disponibles officiellement via la CIPR 80, celles concernant la TEP pulmonaire au ^{68}Ga sont rares et approximatives. Ainsi, d'après ces données, **une TEP de perfusion pulmonaire serait 2 à 10,5 fois plus irradiante pour le patient qu'une scintigraphie de ventilation pulmonaire et une TEP de ventilation pulmonaire serait environ 8,5 fois plus irradiante qu'une scintigraphie de ventilation pulmonaire réalisée avec des $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -nanoparticules de carbone.**

Notons que concernant la dosimétrie du travailleur, des valeurs d'exposition corps entier sont disponibles dans la littérature pour la scintigraphie pulmonaire mais il n'existe aucune valeur pour la TEP pulmonaire au ^{68}Ga .

VII. Conclusion générale et objectifs

Comme l'a montré cette étude bibliographique, la problématique de la transition de la scintigraphie pulmonaire à la TEP pulmonaire n'a été qu'incomplètement investiguée dans le monde et était, insuffisante pour obtenir l'autorisation de l'Agence Nationale de Sécurité du Médicament (ANSM) de réaliser des TEP pulmonaires en France.

Si les propriétés des médicaments radiopharmaceutiques de la scintigraphie pulmonaire sont relativement bien connues, celles des médicaments de la TEP pulmonaire le sont peu.

Les différentes études déjà menées chez l'animal et chez l'homme s'accordaient toutes pour valider l'utilisation des [^{68}Ga]Ga-MAA pour la TEP de perfusion pulmonaire. Quelques procédés de synthèse des MAA marqués ont été décrits dans la littérature mais aucun ne prenait en compte la simplification de toutes les étapes à savoir, l'utilisation d'une trousse de MAA commerciale non modifiée, un éluat de ^{68}Ga non purifié, une solution tampon simple à préparer et une étape de purification sans risque bactériologique et d'irradiation supplémentaire pour l'opérateur. Par ailleurs, peu de procédés étaient automatisés et parmi eux, aucun ne comprenait l'étape de purification. De plus, le ^{68}Ga étant plus irradiant que le $^{99\text{m}}\text{Tc}$ et la préparation des [^{68}Ga]Ga-MAA étant plus complexe que celle des [$^{99\text{m}}\text{Tc}$]Tc-MAA, il semblait particulièrement intéressant d'utiliser un procédé de synthèse rapide, simple et permettant une radioprotection adaptée pour mieux valoriser ce traceur et les possibilités qu'il pouvait offrir.

Concernant les ^{68}Ga -nanoparticules de carbone, leurs propriétés physico-chimiques n'ont jamais été confirmées par une étude et leur équivalence avec celles des $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -nanoparticule de carbone n'a jamais été démontrée. Il s'agissait pourtant d'une étape nécessaire pour valider l'utilisation en routine clinique d'un examen ayant fait ses preuves expérimentalement.

Par ailleurs, lors de la mise en place d'un examen TEP réalisé avec des émetteurs de photons gamma haute énergie, la dosimétrie du travailleur prend une place importante. Cependant, aucune étude

mesurant l'exposition externe et interne du MERM prenant en charge un patient bénéficiant d'un TEP pulmonaire au ^{68}Ga n'a été publiée.

Les objectifs de ce travail ont été de répondre aux 3 questions soulevées à savoir : (1) mettre au point un procédé de synthèse des [^{68}Ga]Ga-MAA simple, rapide et sécurisé à la fois pour le patient et pour l'opérateur, (2) étudier les propriétés des ^{68}Ga -nanoparticules de carbone pour appuyer leur pertinence dans l'indication de la TEP de ventilation et (3) réaliser une étude de poste des travailleurs participant à la prise en charge de patients bénéficiant d'une TEP pulmonaire.

PARTIE EXPERIMENTALE

Introduction :

La transition de la scintigraphie pulmonaire à la

TEP pulmonaire : intérêt et enjeux

La scintigraphie pulmonaire de ventilation perfusion est un examen largement utilisé pour l'évaluation de la fonction pulmonaire régionale. Les MRP utilisés ont une biodistribution bien connue, permettant d'obtenir des informations pertinentes sur les phénomènes que l'on cherche à étudier, que ce soit les MAA pour l'évaluation de la distribution vasculaire pré capillaire pulmonaire ou les nanoparticules de carbones aérosolisées pour l'évaluation de la distribution fonctionnelle ventilatoire au sein de l'arborisation bronchique et alvéolaire pulmonaire. Les limites actuelles de la scintigraphie pulmonaire conventionnelle ne sont pas dues aux MRP utilisés, mais aux limites techniques intrinsèques de l'imagerie monophotonique en comparaison avec l'imagerie TEP, ne permettant pas l'obtention d'images de qualité suffisante pour évaluer précisément la distribution des MRP.

L'intérêt majeur de transposer l'imagerie pulmonaire en TEP était donc disposer d'une technique de détection nettement supérieure (meilleure sensibilité de détection, une meilleure résolution spatiale et temporelle, possibilité de réaliser des mesures quantitatives) pour évaluer plus précisément la distribution régionale des MRP administrés dans les poumons.

Dans ce contexte, en partant du principe que les propriétés des MRP marqués avec le ^{99m}Tc étaient largement documentées et validés, bénéficiant d'une autorisation de mise sur le marché, et tout à fait adaptés aux processus que l'on cherchait à étudier, l'idée directrice de ce travail de thèse a été de s'assurer que les MRP marqués au ^{68}Ga conservaient des propriétés équivalentes.

Plusieurs problématiques découlaient néanmoins de cette substitution du ^{99m}Tc par le ^{68}Ga . La première concernait le procédé de marquage. En effet, bien qu'étant tous deux des métaux, le ^{99m}Tc et le ^{68}Ga ont des propriétés chimiques un peu différentes, par exemple leur taille (128 pm pour le ^{99m}Tc et 62 pm pour le ^{68}Ga). Il était donc nécessaire de vérifier l'hypothèse de la conservation des propriétés pharmacologiques des vecteurs suite au marquage par le ^{68}Ga .

Nous avons montré que les propriétés pharmacologiques des ^{99m}Tc -MAA reposaient notamment sur leur taille qui leur permettait de se localiser au niveau des artérioles pulmonaires terminales dont le diamètre variait entre 10 et 20 μm . La taille était un facteur tout aussi important pour les

nanoparticules de carbone qui devaient être suffisamment petites pour se distribuer de manière homogène jusqu'au niveau alvéolaire. La taille, forme et structure des MAA et des nanoparticules marqués au ^{68}Ga était donc un paramètre déterminant à conserver par rapport à celles des mêmes vecteurs marqués au $^{99\text{m}}\text{Tc}$.

Le second point important pour que la TEP pulmonaire puisse prendre sa place parmi les examens de médecine nucléaire était de pouvoir la pratiquer facilement en routine clinique. Du fait de son accès relativement aisé, le choix du ^{68}Ga devait entre autre contribuer à faciliter l'implémentation de la TEP pulmonaire en médecine nucléaire. Par ailleurs, les étapes de préparations à la fois des [^{68}Ga]Ga-MAA et des ^{68}Ga -nanoparticules de carbone devaient être simples, rapides, et en accord avec les Bonnes Pratiques de Préparation et les règles de radioprotection.

Le dernier prérequis était d'obtenir l'adhésion des équipes qui devraient prendre en charge les patients. La simplicité de mise en œuvre de l'examen était importante mais sa similitude avec la scintigraphie pulmonaire représentait déjà un sérieux avantage. Cependant, le facteur le plus anxiogène pour les équipes était lié à l'utilisation d'un émetteur β^+ qui pouvait faire augmenter de manière non négligeable la dosimétrie des opérateurs intervenant dans la réalisation de la TEP pulmonaire. Une étude dosimétrique menée rapidement après la mise en place de l'examen dans notre service devait permettre de répondre aux inquiétudes de chacun.

Le travail exposé dans la partie expérimentale s'est attaché à traiter chacun des 3 grands points développés ci-dessus. Il a été initié le cadre de l'essai clinique PETEP (clinical trials NCT04179539) mené dans le service de médecine nucléaire de Brest et qui avait pour objectif d'évaluer la TEP/TDM pulmonaire de ventilation-perfusion au ^{68}Ga pour le diagnostic de l'embolie pulmonaire (EP) en comparant avec l'angioscanner thoracique.

Ainsi, les résultats présentés dans les chapitres I et II de cette partie expérimentale ont permis de rédiger les DME (dossiers du médicament expérimental) des ^{68}Ga -nanoparticules de carbone et des

[⁶⁸Ga]Ga-MAA soumis et validés par l'ANSM (Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé) en 2019.

Le chapitre I traitera les différents aspects de la transition appliqués à la suspension de [⁶⁸Ga]Ga-MAA, soit la mise au point d'un procédé de synthèse et de contrôles les plus simples et rapides possibles et la vérification du maintien des propriétés pharmacologiques des MAA après leur marquage au ⁶⁸Ga.

Le chapitre II abordera les aspects de la préparation et le maintien des propriétés physiques des nanoparticules malgré le changement de radionucléides.

Le chapitre III, correspondra à l'étude dosimétrique du personnel de médecine nucléaire participant à la prise en charge des patients bénéficiant d'une TEP/TDM pulmonaire.

Chapitre I :

**Mise au point du marquage automatisé des MAA au
 ^{68}Ga et des contrôles du produit fini**

I. Introduction

Plusieurs procédés de marquage des MAA par le ^{68}Ga ont été décrits dans la littérature (1, 26, 34, 35, 43-50). Si la grande majorité utilisait des trousse commerciales de MAA autorisées pour le marquage au $^{99\text{m}}\text{Tc}$, toutes présentaient des différences au niveau des points sensibles du procédé : le traitement des MAA et de l'éluat de ^{68}Ga avant le marquage, les paramètres de marquage (choix du tampon, pH du milieu réactionnel, température et temps de chauffage), l'automatisation ou non du procédé.

Les résultats des travaux publiés ont montré qu'une pré-purification de l'éluat de ^{68}Ga et le lavage de MAA n'étaient pas nécessaires à l'obtention d'un bon rendement de marquage (26, 35, 43, 46). En revanche, tous les auteurs procédaient à une purification des ^{68}Ga -MAA majoritairement par centrifugation. Aucun ne proposait une automatisation de cette étape. Or, la centrifugation impliquait de sortir le produit fini de l'enceinte de préparation au risque de contaminer bactériologiquement le produit fini. De plus, cette opération était consommatrice de temps et irradiante pour le personnel.

Pour faciliter l'implémentation de la TEP pulmonaire au ^{68}Ga dans les services de médecine nucléaire, il était important que le procédé de préparation soit simple, rapide, reproductible et le moins irradiant possible pour le personnel tout en permettant d'obtenir un médicament radiopharmaceutique conforme aux Bonnes Pratiques de Préparation (BPP).

L'objectif de ce travail a donc été de mettre au point une synthèse entièrement automatisée des ^{68}Ga -MAA de l'éluat du générateur de $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ jusqu'à la purification du produit fini, de valider cette méthode et de déterminer et valider les contrôles qualité libérateurs et post-libérateurs du produit fini.

Ce travail s'est articulé en 2 grandes parties. La première a consisté à mettre au point et valider le procédé de préparation automatisée des ^{68}Ga -MAA. La seconde partie a porté sur la mise au point des contrôles qualité du produit fini et de leur validation. Ces 2 grands axes ont été développés en

parallèle dans le but de constituer la partie I d'un Dossier du Médicament Expérimental (DME) soumis à l'ANSM en complément de la demande d'autorisation de l'essai clinique PETEP.

II. Mise au point du procédé de synthèse des [^{68}Ga]Ga-MAA

Le développement de ce procédé s'est déroulé en plusieurs étapes, les résultats d'une étape permettant de débiter la suivante. Aussi, afin de fluidifier la lecture, les bases du matériel utilisé tout au long de l'étude ont été regroupées dans une première partie suivie de différentes parties correspondant aux grandes étapes du développement.

A. Matériel et méthodes : les bases

Tous les solvants utilisés pour la procédure de marquage étaient de qualité pharmaceutique. L'acide chlorhydrique (HCl) 0,1N ultrapur utilisé pour éluer le générateur de $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ a été fourni par Eckert & Ziegler Radiopharma GmbH (Berlin, Allemagne). Les solutions d'acétate de sodium ont été préparées à partir d'acétate de sodium anhydre EMSURE[®] ACS et d'eau pour analyse EMSURE[®], les deux réactifs étant fournis par Merck KGaA (Darmstadt, Allemagne). Elles ont été préparées et stérilisées par passage sur un filtre 0,22 μm sous un poste de sécurité microbiologique (PSM) de classe II.

La trousse commerciale de MAA (Pulmocis[®]) composée de 2,0 mg de MAA, d'albumine humaine, d'étain stanneux (SnCl_2) et de chlorure de sodium (NaCl) sous la forme d'un lyophilisat stérile et apyrogène a été fournie par CIS Bio International (CURIUM, Saclay, France).

Le ^{68}Ga a été obtenu sous forme de $^{68}\text{GaCl}_3$ à partir d'un générateur de 1,85 GBq de $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ (GalliaPharm[®]) produit par Eckert & Ziegler RadioPharma GmbH (Berlin, Allemagne) et distribué par CycloPharma (CURIUM, St Beauzire, France).

Pour les contrôles de pureté radiochimique (PRC), les solutions de citrate de sodium 0,1M ont été préparées à partir d'eau distillée et de citrate de sodium anhydre fourni par Honeywell Fluka[™] et distribué par Fisher Scientific (Illkirch, France).

B. Mise au point de la synthèse automatisée sans purification des MAA marqués

La mise au point de la procédure automatisée a été faite sans purification des [^{68}Ga]Ga-MAA dans un premier temps. Elle a comporté 2 étapes : la détermination des paramètres de synthèse (le pH et la température de chauffage du milieu réactionnel) de manière manuelle puis l'automatisation de ces paramètres. La simplification du procédé de préparation faisant partie des prérequis de ce travail, nous avons choisi d'utiliser :

Une trousse commerciale de MAA sans lavage des MAA préalablement au marquage

L'éluat de ^{68}Ga dans sa totalité, sans pré-purification.

Ces choix ont été guidés par les données de la littérature qui rapportaient de bons rendements de marquage sans pré-lavage des MAA ou sans pré-purification de l'éluat (26, 35, 43, 47). Soulignons cependant, qu'aucun procédé publié n'associait ces deux paramètres.

1. Détermination des paramètres de synthèse en manuel

a) Méthodes

Sur la base des procédés publiés dans la littérature, 4 pH et 4 températures ont été testés (1, 43, 45-47). Par ailleurs, le temps de chauffage le plus fréquemment utilisé dans les publications a été retenu pour cette étape soit 15 min. Les pH testés étaient les suivants : 4,30 ; 4,80 ; 5,30 et 5,80. Ils ont été obtenus en utilisant des solutions d'acétate de sodium de molarité croissante (0,31M pour le pH 4,30 ; 0,35M pour le pH 4,80 ; 0,39M pour le pH 5,30 et 0,43M pour le pH 5,80). Les trousse de MAA ont été reconstituées avec 2 mL de solution d'acétate de sodium puis 5 mL de $^{68}\text{GaCl}_3$ ont été introduits dans chacune d'elles. Les pH du milieu réactionnel ont été mesurés à l'aide d'un pHmètre (HANNA Instruments, Lingo Tanneries, France). Chaque flacon a ensuite été chauffé dans un bain marie sec pendant 15 min aux différentes températures testées soit 50°C, 60°C, 70°C et 80°C. A la fin de l'étape de chauffage, les caractères organoleptiques des suspensions ont été contrôlés visuellement.

b) Résultats - discussion

Le tableau 1 présente les caractères organoleptiques des suspensions de MAA en fonction des températures de chauffage et du pH du milieu réactionnel.

Température de chauffage (°C)	Caractères organoleptiques des suspensions de MAA			
	pH = 3.8	pH = 4.3	pH = 4.8	pH = 5.3
80	Suspension blanche sans sédimentation	Sédimentation rapide	Sédimentation rapide	Sédimentation rapide
70	Suspension blanche sans sédimentation	Suspension blanche sans sédimentation	Suspension blanche sans sédimentation	Filaments en suspension
60	Suspension blanche sans sédimentation	Suspension blanche sans sédimentation	Suspension blanche sans sédimentation	Filaments en suspension
50	Suspension blanche sans sédimentation	Suspension blanche sans sédimentation	Suspension blanche sans sédimentation	Suspension blanche sans sédimentation

Tableau 1: Caractères organoleptiques de la suspension de MAA en fonction de la température de chauffage et du pH du milieu réactionnel. Les trousse de MAA ont été remises en suspension avec 5 mL d'HCl 0,1N et 2 mL de la solution d'acétate de sodium dont la molarité variait selon le pH à atteindre (0,31 M pour un pH = 3,8 ; 0,35 M pour un pH = 4,3 ; 0,39 M pour un pH = 4,8, 0,43 M pour un pH = 5,3). Toutes les suspensions ont été chauffées pendant 15 min.

A un pH de 3,8, le milieu réactionnel a pu être chauffé de 50 à 80°C en restant une suspension blanche sans sédimentation. Pour des pH allant de 4,3 à 4,8, une sédimentation rapide a été observée à 80°C. Avec un pH à 5,3, des filaments sont apparus dans le milieu réactionnel dès 60°C et une sédimentation rapide a été observée à 80°C. **Au regard de ces résultats, les conditions retenues pour maintenir l'intégrité de la suspension de MAA durant l'étape de chauffage de 15 min furent de placer le milieu réactionnel à un pH à 4,3 et de le chauffer à une température de 60°C.** Ce choix devait nous permettre de faire varier le pH et la température en maintenant les caractères organoleptiques de la suspension si les rendements de marquage de la synthèse automatisée le nécessitaient. Par ailleurs, le pH de 4,3 était concordant avec la littérature qui mentionnait majoritairement des pH compris entre 4 et 5 pour

le milieu réactionnel (34, 35, 44-47, 49, 50). Ce pH a été atteint en reconstituant la trousse commerciale de MAA avec 2 mL d'une solution d'acétate de sodium (AcONa) 0,35M. La température retenue ici était légèrement inférieure à celles mentionnées dans la littérature qui étaient pour la plupart comprises entre 70 et 75°C (1, 26, 34, 35, 43-46) permettant de garantir une température réelle de chauffage strictement inférieure à 70°C, malgré de possibles légères variations de température de l'automate de synthèse.

Par ailleurs, **une solution d'acétate de sodium a été retenue pour l'ajustement du pH**. En effet, l'acétate était autorisé pour l'administration à l'homme contrairement à l'HEPES par exemple (51) et présentait comme avantage une simplicité de préparation par rapport à celle d'un tampon acétate, facilitant la mise en place de la technique dans les services de médecine nucléaire.

Le volume de solution d'acétate de sodium utilisé pour la remise en suspension de la trousse de MAA **a été fixé à 2 mL** par anticipation de l'automatisation du procédé. En effet, pour l'automatisation de la synthèse, il fallait que le volume soit suffisant pour permettre un transfert quasiment total de la trousse vers le flacon réacteur tout en respectant un volume total du milieu réactionnel (MR) (contenu de la trousse + 5 mL d'éluat de ^{68}Ga) et en restant inférieur à 10 mL, contenance maximale du flacon réacteur.

c) En résumé

Les paramètres de synthèse retenus pour l'automatisation du procédé furent donc :

La remise en suspension de la trousse dans 2 mL de solution d'acétate de sodium à 0,35M

Le chauffage du milieu réactionnel à 60°C pendant 15 min.

2. Automatisation du procédé avec les paramètres déterminés précédemment

a) Méthodes

La procédure automatisée a été réalisée avec un miniAIO® (Trasis®, Ans, Belgique) placé dans une enceinte blindée haute énergie en classe A. Des cassettes pour marquage des peptides sans pré-purification de l'éluat de ^{68}Ga captives du miniAIO® et prêtes à l'emploi (Trasis®, Ans, Belgique) ont été utilisées. L'automate de synthèse était piloté par le logiciel Trasis Supervision® (Trasis®, Ans, Belgique).

La trousse commerciale a été remise en suspension manuellement avec 2 mL de solution d'acétate de sodium 0,35M puis le flacon a été placé sur la cassette en position 4 (figure 1). La chronologie de la synthèse fut la suivante : (1) transfert des MAA reconstitués dans le flacon réacteur positionné dans le four du synthétiseur, (2) élution du générateur de $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ avec une seringue de 5 mL d'HCl 0,1N et récupération de l'éluat dans la seringue en position 3 sur la cassette, (3) transfert de l'éluat dans le flacon réacteur, chauffage du milieu réactionnel à la température à 60°C , (4) remise en suspension des MAA, (5) transfert dans le flacon de conditionnement en position 12 de la cassette et (6) dilution du produit fini à 10 mL avec du NaCl 0,9%.

Une première synthèse a été réalisée avec un temps de chauffage du milieu réactionnel de 15 min pour valider les paramètres déterminés manuellement puis, sur la base des données de la littérature qui mentionnaient des phases de chauffage comprises entre 5 et 8 min, le temps de chauffage a été réduit à 6 min afin d'optimiser le temps de préparation. Trois préparations ont été réalisées dans ces conditions.

Le générateur de $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ était systématiquement élué dans les 24h précédant la synthèse afin d'éliminer le zinc-68 (^{68}Zn) pouvant affecter le rendement de synthèse.

Le flacon de conditionnement final était un flacon stérile de 15 mL en verre, incolore, type I de la Pharmacopée Européenne, fermé par un bouchon en chlorobutyl et scellé par une capsule en aluminium.

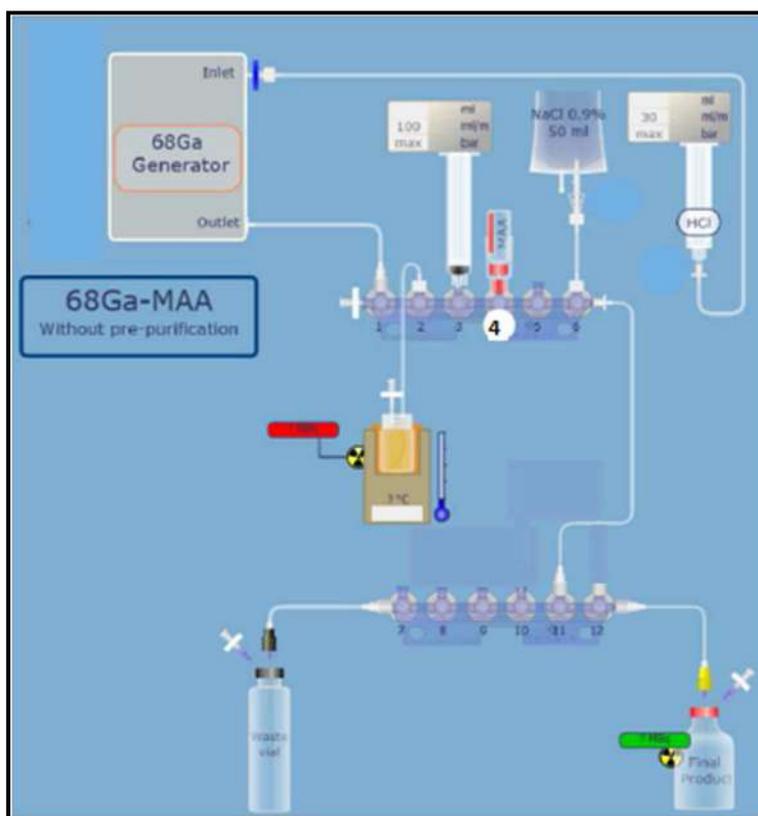


Figure 1 : Ecran de contrôle du logiciel Trasis Supervision pour la mise au point de la synthèse automatisée des $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-MAA}$

La validation des paramètres de synthèse en mode automatique a été effectuée par les contrôles de PRC et le calcul des rendements de synthèse (RS).

Le contrôle de PRC a été réalisé comme décrit dans la partie II de ce chapitre, par CCM (chromatographie sur couche mince) sur des bandes ITLC-SG (PALL Life Sciences, Port Washington, NY) avec du citrate de sodium 0,1M pH 5 comme phase mobile. L'analyse de la répartition de la radioactivité sur les bandes de chromatographie et le pourcentage de PRC ont été obtenus à l'aide du miniGITA TLC et du logiciel dédié (Raytest, Straubenhardt, Allemagne) distribué par Elysia (Angleur, Belgique).

Les rendements de synthèse ont été calculés selon la formule: (activité du produit fini / activité d'éluat disponible en début de synthèse) x 100.

b) Résultats - discussion

Le rendement de synthèse obtenu avec le procédé automatisé et un temps de chauffage du milieu réactionnel de 15 min était de 86,3% avec une PRC de la suspension de ^{68}Ga Ga-MAA de 99,3%.

Le transfert des paramètres de synthèse déterminés manuellement semblait donc concluant. L'absence de pré-purification l'éluat de ^{68}Ga avant le marquage comme le fait de ne pas laver les MAA avant leur utilisation ne semblait pas être délétère sur le marquage et concordant avec les données de la littérature. Les résultats obtenus en diminuant le temps de chauffage du milieu réactionnel à 6 min sont présentés dans le tableau 2. Ils confirment le choix des différents paramètres de synthèse.

volume d'AcONa 0,35M en mL	pH	vol. éluat en mL	temps de chauffage (min)	RS corrigé de la décroissance en %	PRC en %
2	4,3	5	6	88,0	95,5
			6	85,0	99,1
			6	89,0	98,7
			Moyenne	87,3	97,8
			Ecart type	2,1	2,0

Tableau 2 : Résultats des rendements de synthèse (RS) corrigés de la décroissance et de la pureté radiochimique des suspensions de ^{68}Ga Ga-MAA obtenus avec le procédé de synthèse automatisé sans purification du produit fini, reprenant les paramètres validés manuellement.

Les résultats de pureté radiochimique obtenus dans ces conditions pouvaient remettre en cause la nécessité d'effectuer une purification de la suspension de ^{68}Ga Ga-MAA avant l'administration au patient. Cependant, afin de s'assurer de l'élimination des petites particules (< 10 μm) qui pouvaient se comporter comme les nanoparticules d'albumine en se localisant au niveau de la moelle osseuse après administration et l'étain présent initialement dans la trousse commerciale avant l'administration au patient, il a semblé préférable de conserver cette étape (34).

c) En résumé

A l'issue de cette étape, les paramètres de synthèse retenus furent les suivants :

Pas de lavage des MAA avant marquage

Pas de pré-purification de l'éluat de ^{68}Ga

Remise en suspension de la trousse commerciale de MAA avec 2 mL de solution d'acétate de sodium 0,35M

Chauffage du milieu réactionnel 6 min à 60°C.

3. Pour résumer la mise au point du procédé de synthèse automatisé des ^{68}Ga Ga-MAA sans purification des MAA marqués

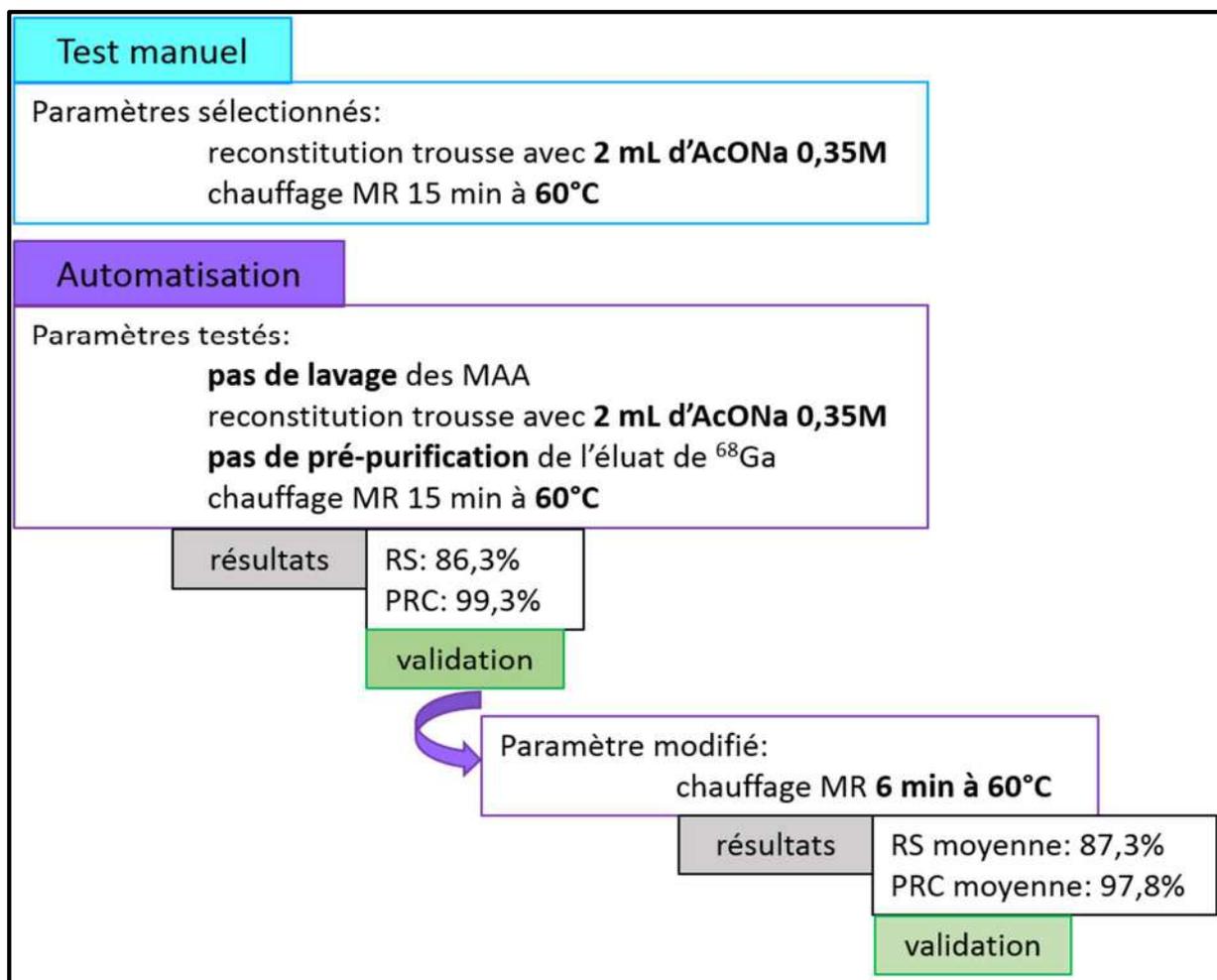


Figure 2 : Résumé des étapes de mise au point de la synthèse automatisée des ^{68}Ga Ga-MAA

C. Mise au point du procédé de purification des $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-MAA}$

1. Choix du procédé de purification

a) *Matériel et méthodes*

La centrifugation, processus le plus utilisé dans la littérature, n'était pas automatisable (26, 34, 35, 42-44, 46, 49). Nous nous sommes donc basés sur Maus et al. qui utilisaient une cartouche Sep-Pak® pour la purification des $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-MAA}$ et sur le procédé de contrôle de la radioactivité non filtrable des suspensions de $[^{99\text{m}}\text{Tc}]\text{Tc-MAA}$ décrit dans la Pharmacopée et utilisant un filtre, pour sélectionner le dispositif le plus adapté à cette étape de purification (45). La sélection a été réalisée à l'aide d'un test préliminaire consistant à comparer le pourcentage de décrochage des MAA marqués avec les 2 types de systèmes (cartouche Sep-Pak® et filtre). Au regard de la taille des MAA (10 à 90 μm), le filtre testé a été choisi avec des pores d'un diamètre de 5 μm afin que les particules supérieures à cette taille restent à la surface de ce dernier.

Le test a été réalisé avec des $[^{99\text{m}}\text{Tc}]\text{Tc-MAA}$ préparés selon le résumé des caractéristiques du produit (RCP) à partir d'une trousse commerciale (Pulmocis®) et d'un éluat de $^{99\text{m}}\text{Tc}$ obtenu à partir d'un générateur de $^{99}\text{Mo}/^{99\text{m}}\text{Tc}$ (TEKCIS® 6 GBq, CIS Bio International, France).

0,2 mL de la suspension de $[^{99\text{m}}\text{Tc}]\text{Tc-MAA}$ a été prélevé avec une seringue de 5 mL et complété à 5 mL avec du NaCl 0,9%. La suspension diluée a été poussée lentement sur le filtre ou la cartouche Sep-Pak® lesquels ont ensuite été comptés à distance d'une sonde NaI(Tl) afin d'obtenir l'activité déposée sur chacun des dispositifs en nombre de coups/10s (cps/10s) (=A0). Deux procédés de décrochage des MAA marqués ont été testés.

Le premier a consisté à décrocher les $[^{99\text{m}}\text{Tc}]\text{Tc-MAA}$ de la cartouche Sep-Pak® ou du filtre en passant 5 mL de NaCl 0,9%, puis 5 mL d'air sur chaque dispositif. **Le filtre a été retourné entre le passage des MAA marqués et celui du NaCl 0,9%** (Figure 3). Le comptage de l'activité restant sur les 2 dispositifs (=A1) a été réalisé dans les mêmes conditions que A0. Puis un premier pourcentage de décrochage a été calculé de la manière suivante : $((A0-A1)/A0) * 100$.

La même opération a été réalisée une nouvelle fois sur la cartouche et le filtre et un second pourcentage de décrochage a été calculé comme indiqué ci-dessus.

Le second procédé a consisté à décrocher les ^{99m}Tc Tc-MAA en passant 10 mL de NaCl 0,9% puis 10 mL d'air. Un unique pourcentage de décrochage a ensuite été calculé comme précédemment.

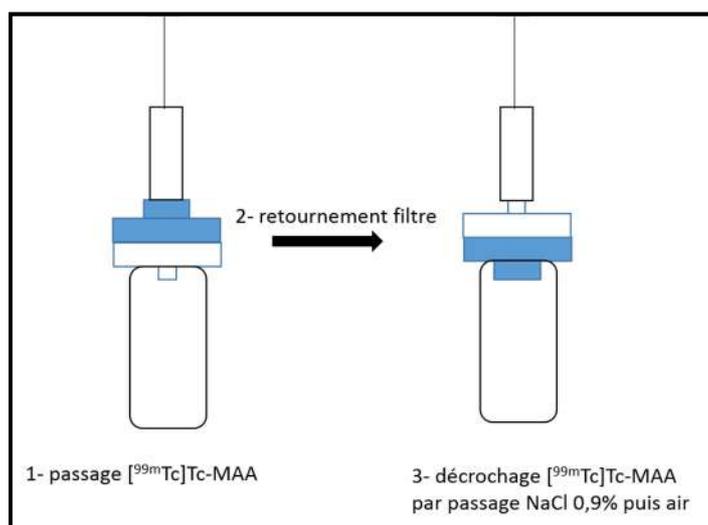


Figure 3 : Placement du filtre pour les tests préliminaires de purification

b) Résultats - Discussion

D'après les résultats présentés dans le tableau 3, le filtre a semblé plus adapté pour la purification des MAA marqués du fait du pourcentage de décrochage plus important que ce soit avec 2 passages de 5 mL de NaCl 0,9% ou 1 seul passage. Par ailleurs, quel que soit le dispositif testé, le décrochage a été plus efficace en passant 1 fois 10 mL de NaCl 0,9% plutôt que 2 fois 5 mL.

Dispositif testé	A0 cps/10s	Vol. NaCl en mL	Vol. air en mL	A restant sur le filtre en cps/10s	% décrochage	Vol. NaCl en mL	Vol. air en mL	A restant sur le filtre en cps/10s	% final de décrochage
MILLEX®-SV 5 μm	112943	5	5	67361	40,36%	5	5	44163	60,90%
	108323	10	10	18254	83,15%				
Sep-Pak®	5163	5	5	4447	13,87%	5	5	4082	20,94%
	92703	10	10	45324	51,11%				

Tableau 3 : Pourcentage de décrochage des ^{99m}Tc Tc-MAA en fonction du dispositif testé et du mode opératoire appliqué.

c) *En synthèse*

A l'issue de ce test préliminaire, le choix a été fait de mettre au point la purification automatisée avec **un filtre ayant des pores de 5 μm de diamètre.**

2. Automatisation du procédé de purification

a) *Test de la purification en automatique*

Le filtre retenu a été implémenté sur la cassette (photo 1). La séquence de synthèse a été modifiée pour permettre le passage du milieu réactionnel sur le filtre afin de déposer les ^{68}Ga Ga-MAA sur celui-ci et d'éliminer le milieu réactionnel dans le flacon à déchets. Les ^{68}Ga Ga-MAA étaient récupérés en passant 10 mL de NaCl 0,9% à la vitesse de 50 mL/min puis 10 mL d'air par-dessous le filtre. Le filtrat contenant théoriquement les ^{68}Ga Ga-MAA était envoyé dans le flacon de conditionnement final (Figure 3).

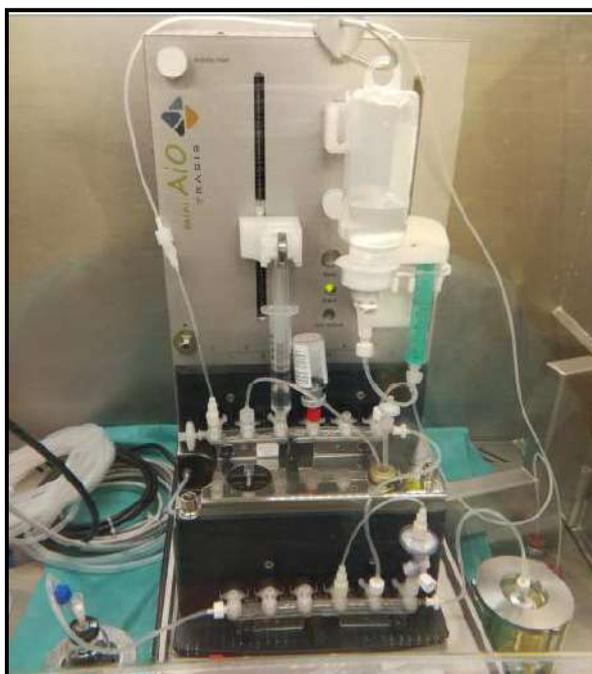


Photo 1 : Cassette avec le filtre sur la rampe du bas pour la purification des ^{68}Ga Ga-MAA.

L'avancée de la mise au point a été guidée par les rendements de synthèse, le pourcentage de décrochage des $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-MAA}$ à l'issue de la purification et la pureté radiochimique (PRC) du produit fini. Le pourcentage de décrochage a été calculé de la manière suivante :

$$(\text{Activité du produit fini} / \text{activité du flacon réacteur}) \times 100$$

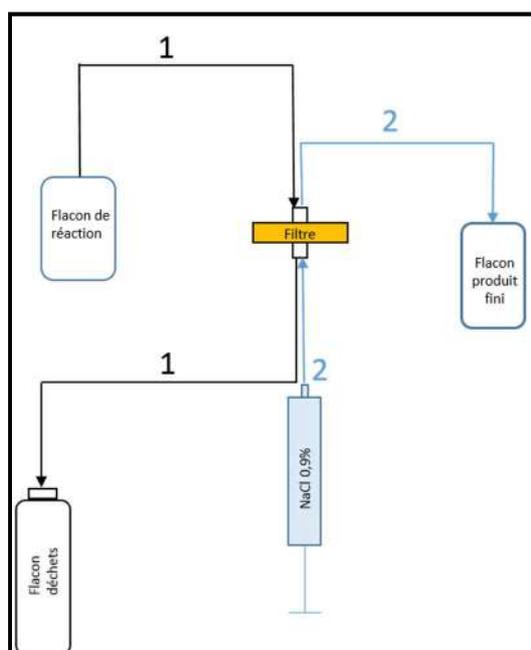


Figure 3 : Chronologie des étapes de purification des $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-MAA}$ en automatique.

- 1 : envoi du milieu réactionnel dans le flacon par le dessus du filtre, dépôt des $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-MAA}$ sur le filtre et envoi du milieu réactionnel dans le flacon déchets.
- 2 : envoi de 10 mL de NaCl 0,9% par-dessous le filtre pour récupérer les $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-MAA}$ dans le contenant final

A l'issue de ce premier test, le produit fini était limpide mais ne contenait aucun $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-MAA}$. Sachant que les conditions de marquage avaient été validées auparavant, l'étape de purification semblait responsable. Un nouveau test a été réalisé en augmentant la vitesse d'envoi du NaCl 0,9% sur le filtre à 100 mL/min contre 50 mL/min précédemment. Le pourcentage de décrochage a alors été de 15%.

Alors que nous rencontrons des difficultés pour l'automatisation de l'étape de purification des $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-MAA}$, **l'utilisation de la gravité** nous a semblé pouvoir être une solution. En effet, lors des tests manuels, le filtre de purification était retourné entre le passage de la suspension de MAA et le décrochage avec le NaCl 0,9% de sorte que les MAA puissent être récupérés dans le tube (figure 3).

Ainsi, il était fort probable que deux facteurs intervenaient dans le décrochage des MAA marqués : le passage de NaCl 0,9% sur le filtre mais également le fait que la membrane sur laquelle les MAA étaient déposés soit orientée vers le bas. Les MAA étant de grosses particules, la gravité devait favoriser leur décrochage du filtre et leur entraînement par le NaCl 0,9%.

Avant la mise en application du principe de la gravité en automatique, de nouveaux tests en manuels furent effectués dans le but de trouver le positionnement du filtre sur la cassette qui permettrait d'utiliser la gravité pour le décrochage.

b) *Nouveaux tests du procédé de purification en manuel*

(1) Utilisation de la gravité pour le décrochage des $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-MAA}$

Le premier test en manuel a consisté à tester le décrochage des $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-MAA}$ en utilisant la gravité. Pour cela, une synthèse automatique a été réalisée et stoppée à la fin de l'étape de chauffage. Comme indiqué sur la figure 4, une partie du milieu réactionnel a été envoyée sur le filtre manuellement en passant par-dessous celui-ci puis les $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-MAA}$ ont été décrochés en poussant 10 mL de NaCl 0,9% par le dessus du filtre.

Le pourcentage de décrochage a alors été de 98% et la PRC du produit purifié de 98% également.

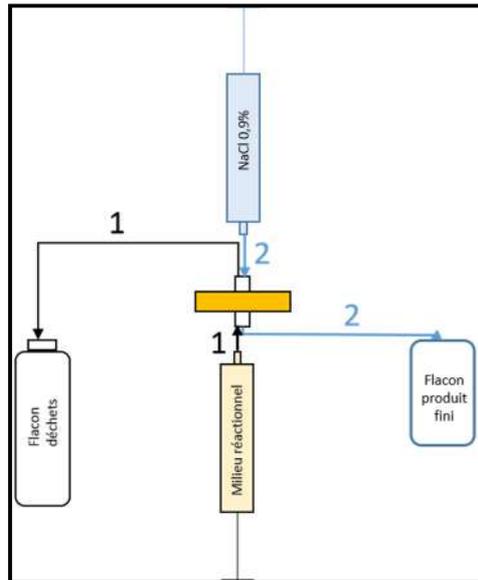


Figure 4 : Procédé de purification des $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-MAA}$ par filtration utilisant la gravité.

1 : envoi du milieu réactionnel par le dessous du filtre, dépôt des $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-MAA}$ sur le filtre et envoi du milieu réactionnel dans le flacon déchets. 2 : passage de 10 mL de NaCl 0,9% par-dessus le filtre pour récupérer les $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-MAA}$ dans le contenant final.

(2) Test de l'impact des flushs d'air sur le taux de décrochage des $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-MAA}$

L'impact d'un flush d'air entre le dépôt des $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-MAA}$ et leur décrochage par le NaCl 0,9% était important à évaluer par rapport aux volumes morts des tubulures de la cassette. Nous avons donc cherché à évaluer si le passage d'air était à éviter, ce qui aurait demandé une extrême précision dans le réglage des paramètres de la synthèse ou si la tolérance d'un faible volume d'air était acceptable, facilitant l'optimisation de la synthèse automatisée.

Ce test a été mené en utilisant une partie du milieu réactionnel issu de la synthèse précédente :

Passage du milieu réactionnel par-dessous le filtre.

Passage de 10 mL d'air par le dessous du filtre.

Passage de 10 mL de NaCl 0,9% par-dessus le filtre pour le décrochage.

Dans ces conditions, le taux de décrochage des $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-MAA}$ n'a plus été que de 60%.

Le passage d'air par le bas du filtre immédiatement après le passage du milieu réactionnel n'était donc pas tolérable.

(3) Test de l'impact d'un rinçage avec 10 mL de NaCl 0,9% par le bas du filtre

Le test de l'impact du passage de 10 mL de NaCl 0,9% par le bas du filtre immédiatement après le passage du milieu réactionnel était important pour déterminer s'il était possible de procéder à un rinçage du flacon réacteur.

Ce test a été réalisé en utilisant une partie du milieu réactionnel issu de la synthèse précédente :

Passage du milieu réactionnel par-dessous le filtre.

Passage de 10 mL de NaCl 0,9% par le dessous du filtre.

Passage de 10 mL de NaCl 0,9% par-dessus le filtre pour le décrochage.

Le taux de décrochage des $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-MAA}$ a alors été de 98%.

Le passage de NaCl 0,9% par le bas du filtre immédiatement après celui du milieu réactionnel n'avait pas d'impact sur le taux de décrochage des MAA marqués ce qui rendait théoriquement possible un rinçage du flacon réacteur pour récupérer le maximum de $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-MAA}$.

(4) En résumé

Ces tests manuels ont ainsi permis de vérifier que :

La **gravité était bien un facteur à prendre en compte impérativement** pour décrocher efficacement les $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-MAA}$ du filtre.

Le passage d'air par le bas du filtre immédiatement après le passage du milieu réactionnel et avant le décrochage par le NaCl 0,9% était à éviter.

Le rinçage du filtre par le bas avec du NaCl 0,9% suite au passage du milieu réactionnel n'avait pas d'impact sur le taux de décrochage.

c) *Adaptation des paramètres testés manuellement au procédé automatisé*

Les paramètres de purification issus des tests précédents ont été transférés dans le procédé de synthèse automatisé.

La séquence de synthèse a été modifiée pour prendre en compte les éléments suivants :

A la fin de l'étape de chauffage : va et vient du milieu réactionnel dans le flacon réacteur pour remettre en suspension les MAA marqués.

Prélèvement de 6,5 mL de milieu réactionnel sur les 7 mL pour éviter le passage d'air par-dessous le filtre.

Dilution du milieu réactionnel à 11 mL avec du NaCl 0,9% pour refroidissement.

Envoi du milieu réactionnel par le bas du filtre à une vitesse de 5 mL/min.

Passage de 10 mL de NaCl 0,9% par le haut du filtre à une vitesse de 50 mL/min pour décrocher les $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-MAA}$ et les envoyer dans le flacon final.

A l'issue de cette synthèse prélevant 6,5 mL de milieu réactionnel, le rendement de synthèse a été de 45% non corrigé de la décroissance. **Le procédé était donc efficace.** Par ailleurs, la PRC des $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-MAA}$ avant purification (prélevés dans le flacon réacteur) a été de 99,2% et celle du produit fini de 99,6%.

Dans un second temps, une optimisation a été réalisée en augmentant le volume du milieu réactionnel prélevé dans le flacon réacteur à 7 mL afin de récupérer le maximum de MAA marqués.

Le procédé prélevant 7 mL de milieu réactionnel a abouti à un rendement de synthèse de 52% non corrigé de la décroissance (RSncd).

Bien que les paramètres de purification aient été optimisés, le **rendement de synthèse restait insuffisant** reflétant un **pourcentage de décrochage des $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-MAA}$ trop faible**. Les recherches d'optimisation se sont alors orientées vers le filtre en testant plusieurs modèles présentant des caractéristiques différentes.

3. Optimisation et robustesse de la purification automatisée

a) *Optimisation*

Plusieurs filtres avec des propriétés différentes ont été testés.

Nous avons fait varier 2 propriétés : le diamètre des pores du filtre ainsi que le fait qu'ils soient ventilés ou non. Les propriétés des filtres testés sont résumées dans le tableau 4.

Les paramètres de synthèse utilisés avec chacun des filtres ont été les suivants :

Pas de lavage des MAA.

Pas de pré-purification de l'éluat de ^{68}Ga .

Chauffage du milieu réactionnel 6 min à 60°C.

Remise en suspension des MAA marqués.

Prélèvement de 7 mL de milieu réactionnel.

Dilution du milieu réactionnel à 11 mL avec du NaCl 0,9% pour refroidissement.

Envoi du milieu réactionnel par le dessous du filtre à une vitesse de 5 mL/min.

Passage de 10 mL de NaCl 0,9% par le haut du filtre à une vitesse de 50 mL/min pour décrocher les $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-MAA}$ et les envoyer dans le flacon final.

Passage de 10 mL d'air par le haut du filtre.

Les résultats obtenus pour chacun des filtres sont présentés dans le tableau 4.

	Filtre non ventilé	Filtre non ventilé	Filtre double membrane	Filtre ventilé
Diamètre des pores	5 µm	0,45 µm	0,22 µm	0,22 µm
Diamètre du filtre	25 mm	13 mm	22 mm	22 mm
Rendement de synthèse (%) non corrigé de la décroissance	52	20	59	71
Décrochage des [⁶⁸ Ga]Ga-MAA (%)	62,4	23	65,5	99,5

Tableau 4 : Rendements de synthèse et pourcentage de décrochage des [⁶⁸Ga]Ga-MAA en fonction des propriétés des filtres testés.

Le filtre offrant le meilleur pourcentage de décrochage a été le filtre ventilé dont les pores avaient un diamètre de 0,22 µm. Un petit diamètre de pores semblait favoriser une faible rétention des MAA marqués facilitant ainsi leur décrochage.

Dans le but d'améliorer encore les rendements de synthèse, le volume prélevé dans le flacon réacteur a été augmenté à 9 mL (pour 7 mL de milieu réactionnel) afin de récupérer toute l'activité disponible après l'étape de chauffage. Le risque était de diminuer le pourcentage de décrochage à cause du passage d'air sur le filtre immédiatement après le passage du milieu réactionnel.

Par ailleurs, du fait du volume limité à 10 mL de la seringue de prélèvement, le prélèvement d'un volume de 9 mL dans le flacon réacteur avait pour conséquence de diminuer le volume de NaCl 0,9% utilisé pour refroidir le milieu réactionnel avant son passage sur le filtre (2 mL avec les nouvelles conditions contre 4 mL auparavant). Le filtre ventilé 0,22 µm retenu résistait jusqu'à 45°C. Il fallait donc vérifier qu'avec ces nouvelles conditions, la température du milieu réactionnel restait inférieure à 45°C. La mesure de la température a montré qu'après dilution avec 2 mL de NaCl 0,9%, le milieu réactionnel était à 35°C. Les spécifications du filtre étaient donc respectées.

De plus, le rendement de synthèse obtenu dans ces conditions a été de 89% non corrigé de la décroissance, validant ainsi ces paramètres.

En synthèse, **le filtre retenu pour la purification automatisée des ^{68}Ga Ga-MAA fut le filtre ventilé de 22 mm de diamètre et dont la taille des pores était de 0,22 μm .**

Le **volume de milieu réactionnel prélevé** à la fin de l'étape de chauffage fut fixé à **9 mL**.

Le **milieu réactionnel était alors refroidi** à 35°C avec **2 mL de NaCl 0,9%** ce qui permettait de respecter les spécifications du filtre utilisé pour la purification.

b) Tests de robustesse du procédé de purification

Le volume d'HCl 0,1N utilisé pour éluer le générateur de $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ peut varier légèrement selon la précision avec laquelle la seringue d'HCl 0,1N a été préparée. Par ailleurs, il arrive parfois qu'une légère fuite sur la ligne de sortie du générateur diminue le volume d'éluat de ^{68}Ga disponible pour la synthèse. Il était donc intéressant d'étudier l'efficacité du procédé de synthèse totalement automatisé avec de faibles variations de volume d'éluat encadrant les 5 mL normalement utilisés.

Pour cela, 3 nouvelles synthèses ont été réalisées en utilisant les paramètres validés précédemment, soit :

- Pas de lavage des MAA.

- Pas de pré-purification de l'éluat de ^{68}Ga .

- Chauffage du milieu réactionnel 6 min à 60°C.

- Prélèvement de 9 mL dans le flacon réacteur à l'issue de l'étape de chauffage.

- Passage sur le filtre ventilé 0,22 μm , par le dessous du filtre à la vitesse de 5 mL/min.

- Décrochage des ^{68}Ga Ga-MAA en passant 10 mL de NaCl 0,9% à la vitesse de 50 mL/min par le haut du filtre.

- Passage de 10 mL d'air par le haut du filtre.

Le seul paramètre variant ont été le volume d'éluat de ^{68}Ga utilisé.

Trois synthèses ont été effectuées : 1 avec 4 mL d'éluat.

1 avec 5 mL d'éluat.

1 avec 6 mL d'éluat.

Les rendements de synthèse corrigés de la décroissance obtenus dans les différentes conditions ont

été les suivants : 89% avec 4 mL d'éluat.

89% avec 5 mL d'éluat.

86% avec 6 mL d'éluat.

La synthèse entièrement automatisée de l'élution du générateur de $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ à la purification du produit fini réalisée avec les paramètres définis plus haut a très bien supporté des variations de volume d'éluat comprises entre 4 et 6 mL.

Ces résultats recoupaient ceux de la littérature qui ont montré que le marquage des MAA au ^{68}Ga fonctionnait bien avec des pH de milieu réactionnel variant de 4 à 6,5. En effet, les variations de volume d'éluat induisaient des variations de pH du milieu réactionnel puisqu'elles modifiaient le volume d'HCl 0,1N dans celui-ci.

4. Pour résumer la mise au point du procédé de purification des $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-MAA}$

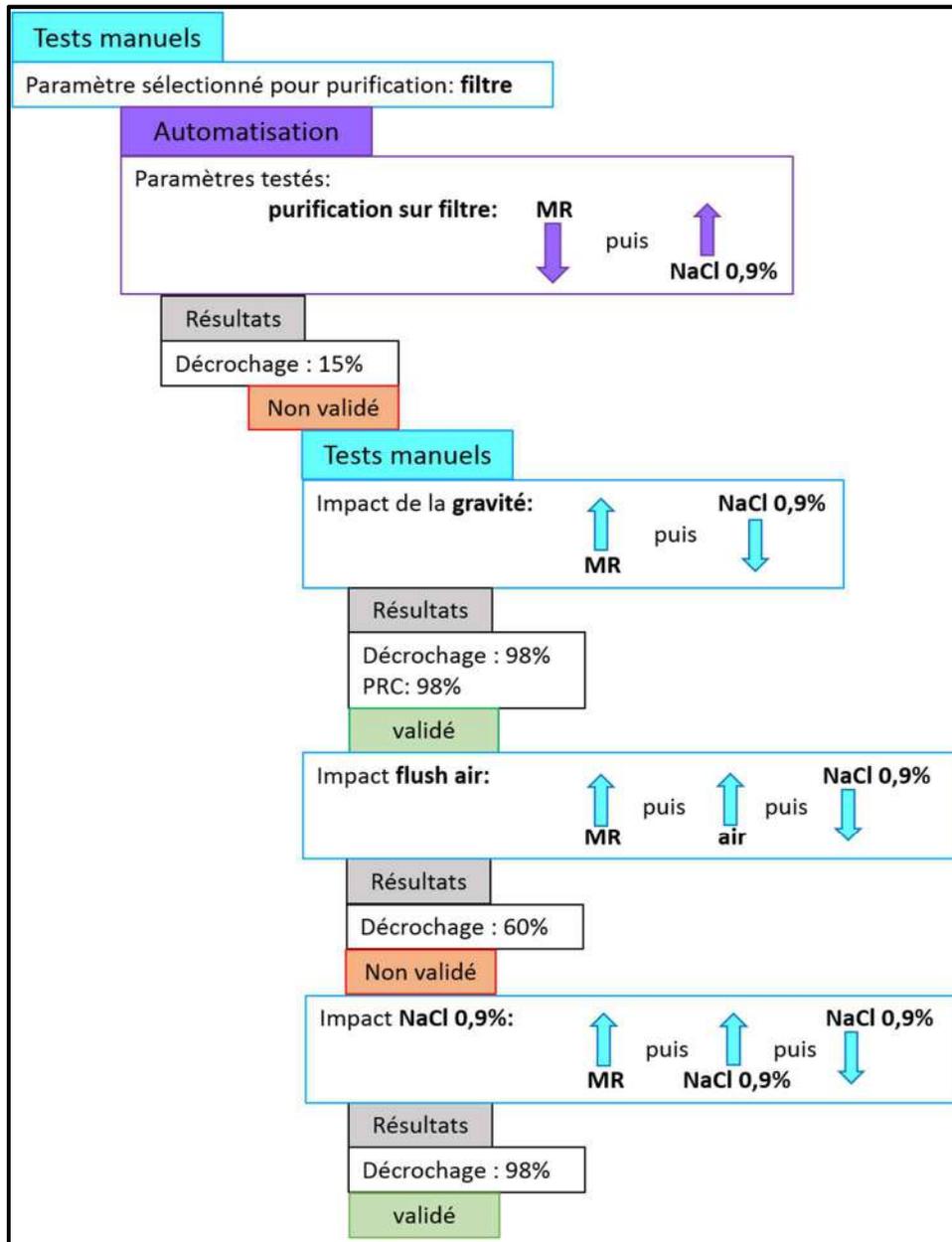


Figure 5 : Résumé des tests manuels et automatiques de mise au point du procédé de purification des $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-MAA}$ (partie 1)

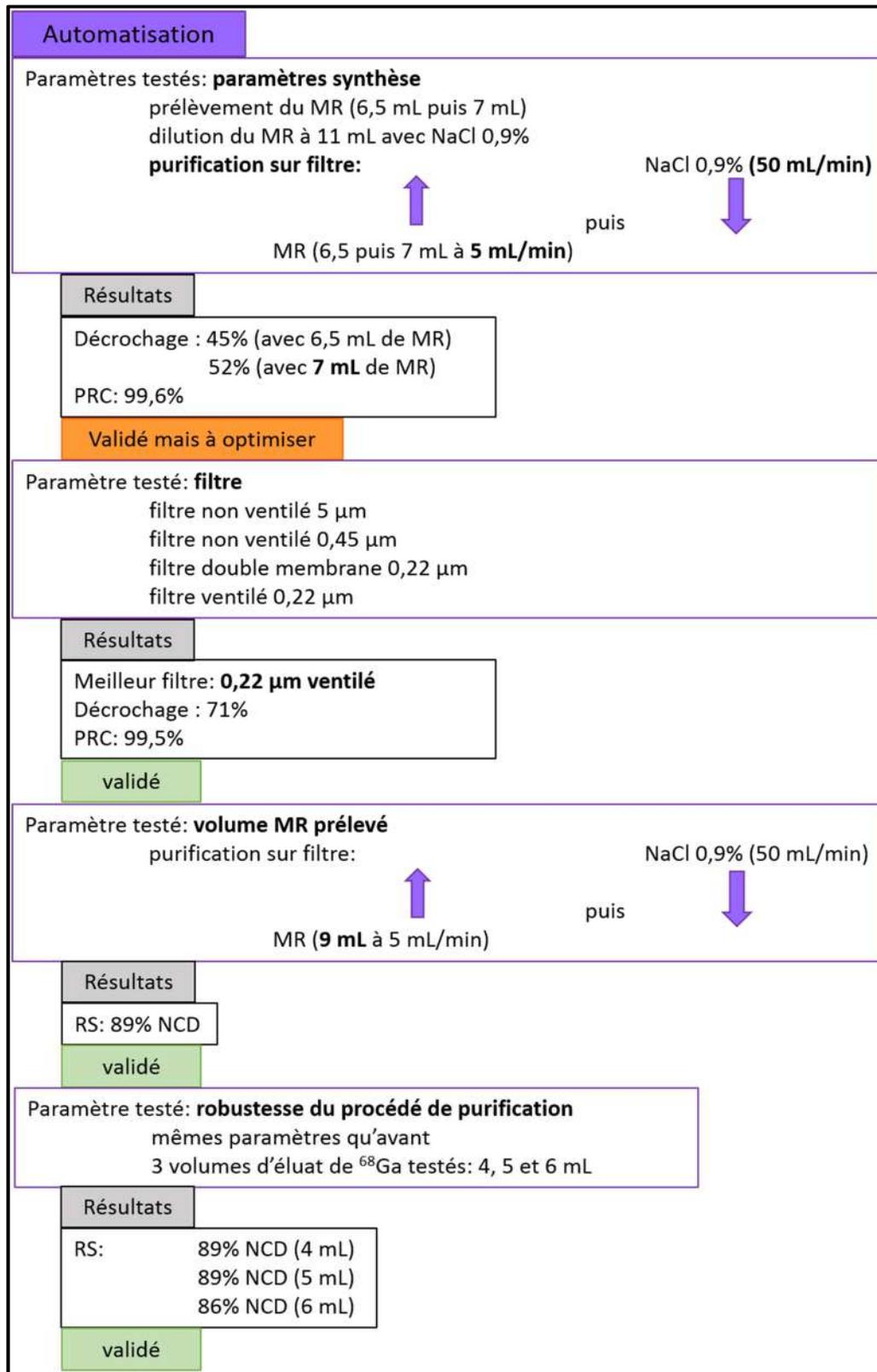


Figure 6 : Résumé des tests manuels et automatiques de mise au point du procédé de purification des [⁶⁸Ga]Ga-MAA (partie 2)

D. Optimisation de la synthèse automatisée pour utilisation en routine clinique

Suite à la mise au point de la synthèse, des évolutions ont été apportées afin de faciliter l'implémentation de la TEP pulmonaire dans les services de médecine nucléaire.

Les nouveaux paramètres ont été validés sur les résultats de RS, PRC et de pourcentage de radioactivité non filtrable obtenus avec les différentes synthèses tests.

1. Fractionnement de l'éluat de ^{68}Ga

La TEP pulmonaire se composait des deux séquences : la TEP de perfusion réalisée avec l'administration de [^{68}Ga]Ga-MAA et la TEP de ventilation nécessitant l'administration d'un aérosol de ^{68}Ga -nanoparticules de carbone. Les 2 examens se faisant de façon consécutive, les productions des 2 MRP devaient pouvoir être menées en parallèle. Il était donc nécessaire de préserver une quantité d'éluat de ^{68}Ga suffisante pour la préparation des ^{68}Ga -nanoparticules de carbone aérosolisées avant de débiter la synthèse des [^{68}Ga]Ga-MAA. Ainsi la séquence de synthèse des [^{68}Ga]Ga-MAA a été adaptée pour que 2 des 5 mL d'éluat de ^{68}Ga soient mis de côté immédiatement après l'élution du générateur de $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$. Les 3 mL restant étaient utilisés pour la préparation des [^{68}Ga]Ga-MAA.

Le volume d'éluat de ^{68}Ga utilisé pour le marquage étant plus faible, la molarité de la solution d'acétate de sodium utilisée pour la reconstitution de la trousse de MAA a été adaptée afin de maintenir le pH du milieu réactionnel à 4,3. Le volume de solution d'acétate de sodium n'a volontairement pas été modifié afin de conserver un volume suffisant pour le transfert des MAA dans le flacon réacteur. **La trousse de MAA a donc été reconstituée avec 2,1 mL (0,1 mL de volume mort de la seringue) d'acétate de sodium 0,2M.**

Par ailleurs, la séquence de synthèse a été modifiée de la manière suivante pour prendre en compte les nouveaux paramètres de synthèse :

Transfert des 2 mL de MAA reconstitués dans le flacon réacteur.

Flush d'air dans le flacon de MAA pour parfaire le transfert.

Elution du générateur avec 5 mL d'HCl 0,1N.

Envoi de 2 mL d'éluat de ^{68}Ga dans le flacon pour la ventilation pulmonaire.

Flush d'air pour vider la tubulure allant au flacon pour la ventilation.

Envoi de 3 mL d'éluat de ^{68}Ga dans le flacon réacteur.

Flush d'air pour vider la tubulure allant au flacon réacteur.

Chauffage du milieu réactionnel 6 min à 60°C.

Prélèvement d'un volume de 9 mL de milieu réactionnel.

Dilution à 11 mL avec du NaCl 0,9%.

Passage du milieu réactionnel par le dessous du filtre à une vitesse de 5 mL/min.

Passage de 10 mL de NaCl 0,9% par le dessus du filtre à une vitesse de 50 mL/min pour décrocher les ^{68}Ga]Ga-MAA et les envoyer dans le flacon final.

Passage de 10 mL d'air par le haut du filtre.

Parallèlement, la cassette a été adaptée pour permettre le fractionnement de l'éluat de ^{68}Ga . Un prolongateur a été placé en position 5 afin d'envoyer les 2 mL d'éluat pour le marquage des nanoparticules de carbone dans un flacon dédié (figure 5).

Le rendement de synthèse corrigé de la décroissance obtenu avec ces paramètres a été de 86%. En revanche, **une surpression provoquant l'arrêt de l'envoi de l'éluat dans le flacon réacteur s'est produite 2 fois** durant le déroulement de la séquence. Cette surpression était liée à la perte d'intégrité du filtre d'aération du flacon réacteur. Le filtre était mouillé et la pression ne s'équilibrait plus dans le flacon. En investiguant le problème plus attentivement, nous avons observé que lors du transfert de

la trousse reconstituée dans le flacon réacteur, les MAA moussaient de façon importante, remontant alors jusqu'au filtre d'aération.

La séquence de synthèse a donc été revue : le flush d'air qui suivait le transfert de la trousse reconstituée dans le flacon réacteur afin d'assurer un transfert quantitatif a été supprimé et **le flacon réacteur a été connecté au port exhaust de synthétiseur** (figure 5). Ce port permet de créer une dépression dans le flacon afin d'équilibrer les pressions sans utiliser de filtre de mise à l'air. **Le flush d'air suivant l'envoi de l'éluat de ^{68}Ga dans le flacon réacteur a été réduit au minimum nécessaire** pour vider la tubulure afin de limiter l'arrivée d'air dans le flacon réacteur et diminuer ainsi la formation de mousse.

Le rendement de synthèse corrigé de la décroissance obtenu dans ces conditions a été de 52% avec **32,5% de l'activité de départ retenue au niveau du filtre de purification.**

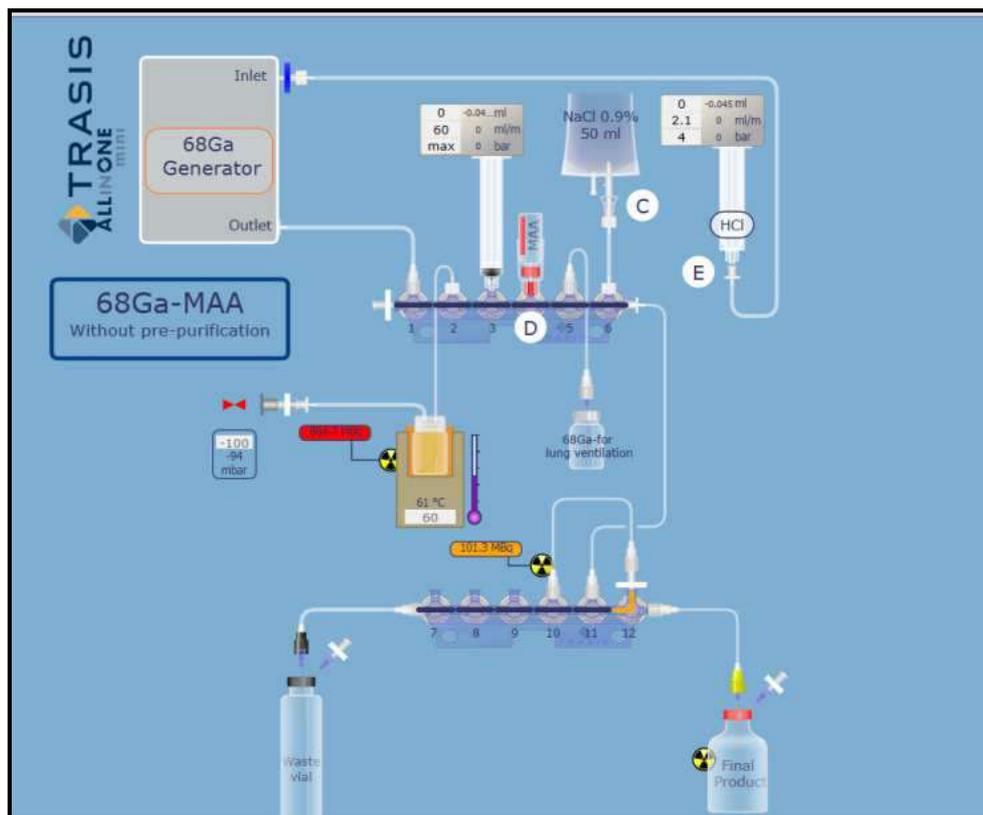


Figure 5 : Ecran de contrôle du logiciel Trasis Supervision pour la synthèse automatisée des ^{68}Ga -MAA avec fractionnement de l'éluat de ^{68}Ga .

Après les multiples étapes d'optimisation de la synthèse des $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-MAA}$, nous savions qu'un mauvais décrochage était lié à un volume d'air trop important passé sur le filtre de purification immédiatement après le milieu réactionnel. Nous avons donc évalué l'impact de ce paramètre. Effectivement, le volume prélevé dans le réacteur après l'étape de chauffage était toujours de 9 mL, valeur fixée pour un volume de milieu réactionnel de 7 mL (2 mL de MAA + 5 mL d'éluat). Or avec l'éluat fractionnée, le volume du milieu réactionnel n'était plus que de 5 mL ce qui avait pour conséquence le passage de 4 mL d'air sur le filtre de purification immédiatement après le milieu réactionnel.

Le volume prélevé dans le flacon réacteur après l'étape de chauffage a donc été ramené à 7 mL ce qui a réduit le volume d'air envoyé sur le filtre à 2 mL.

Les résultats de la synthèse test effectuée avec ces nouveaux paramètres ont confirmé que nous avons identifié la cause du problème. En effet, le rendement de synthèse corrigé de la décroissance a été de 86,4% et 0,34% de l'activité initiale a été retrouvée sur le filtre. La PRC des $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-MAA}$ a été de 98,6% et la radioactivité des particules non filtrables (méthodes décrite dans la partie 2 de ce chapitre) a été de 97,8%.

La figure 6 résume les étapes d'optimisation de la synthèse automatisée pour utilisation en routine clinique.

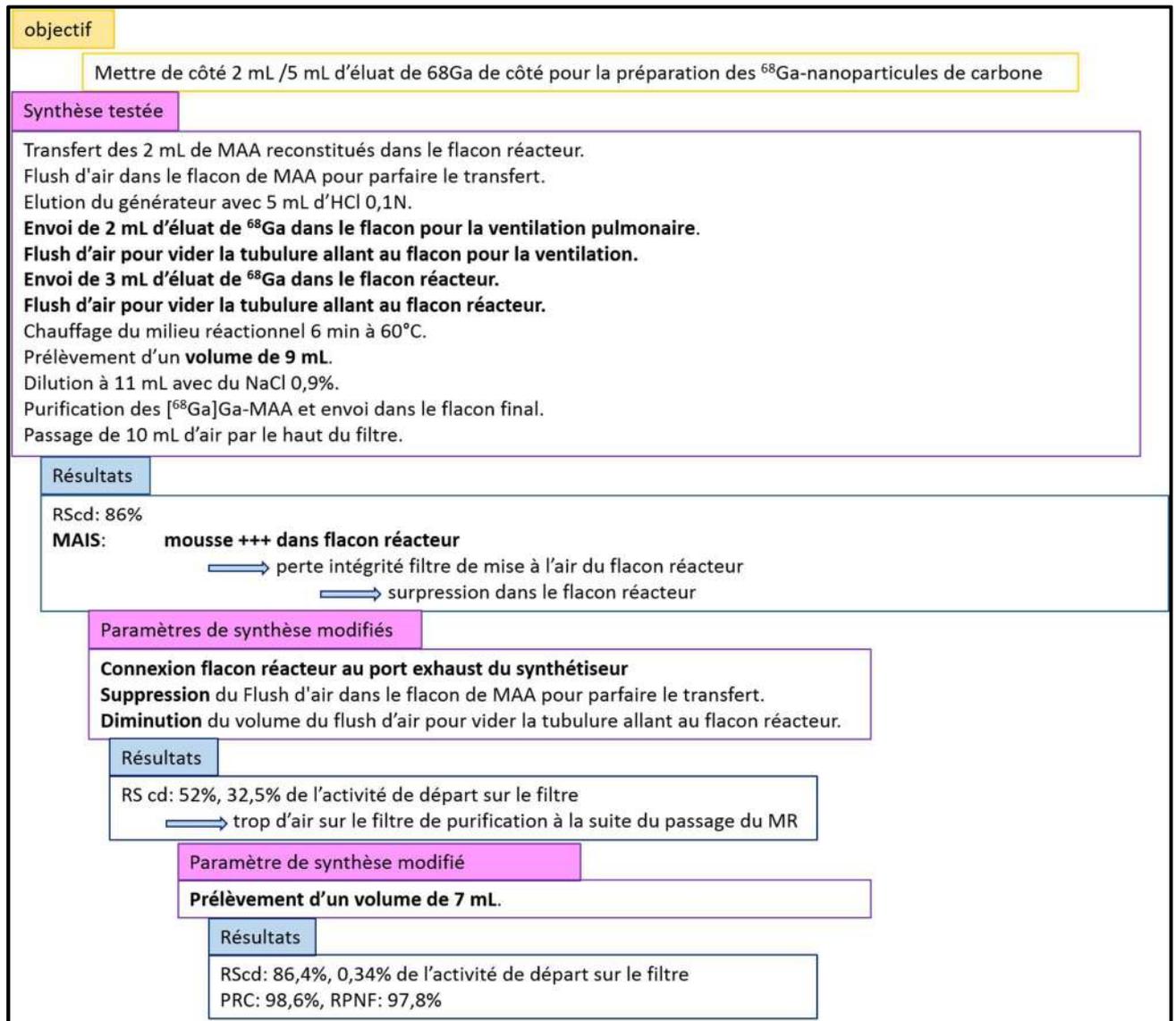


Figure 6 : Résumé des étapes d'optimisation de la synthèse des [^{68}Ga]Ga-MAA avec fractionnement de l'éluat de ^{68}Ga .

2. Optimisation du temps de synthèse

Dans la perspective de faciliter l'intégration de la TEP pulmonaire dans la routine d'un service de médecine nucléaire, des temps de chauffage du milieu réactionnel de 5 min, 10 min et 15 min ont été testés avec la nouvelle séquence de synthèse afin de diminuer au maximum le temps de préparation des MRP.

Les résultats présentés dans le tableau 5 montrent qu'il était possible de réduire le temps de chauffage du milieu réactionnel à 5 min sans altérer ni le rendement de synthèse ni la qualité des MAA marqués.

Temps de chauffage en min	RS ncd en %	PRC en %	RPNF en %
5	93,5	100	99,7
10	94,3	98,2	95,8
15	93,8	97,5	99,6

Tableau 5 : Résultats des rendements de synthèse non corrigés de la décroissance (RSncd) des ^{68}Ga Ga-MAA et des contrôles de pureté radiochimique (PRC) et radioactivité des particules non filtrables (RPNF) en fonction du temps de chauffage du milieu réactionnel.

E. Séquence de synthèse pour la production de ^{68}Ga Ga-MAA en routine clinique

A l'issue de cette partie de mise au point, la séquence de synthèse retenue pour la préparation des ^{68}Ga Ga-MAA et celle des ^{68}Ga -nanoparticules de carbone était la suivante :

Transfert des 2 mL de MAA reconstitués dans le flacon réacteur.
Elution du générateur avec 5 mL d'HCl 0,1N.
Envoi de 2 mL d'éluat de ^{68}Ga dans le flacon pour la ventilation pulmonaire.
Flush d'air pour vider la tubulure allant au flacon pour la ventilation.
Envoi de 3 mL d'éluat de ^{68}Ga dans le flacon réacteur.
Flush d'air de faible volume pour vider la tubulure allant au flacon réacteur.
Chauffage du milieu réactionnel 5 min à 60°C.
Prélèvement d'un volume de 7 mL.
Dilution à 11 mL avec du NaCl 0,9%.
Envoi du milieu réactionnel par le dessous du filtre à une vitesse de 5 mL/min.
Passage de 10 mL de NaCl 0,9% par le dessus du filtre à une vitesse de 50 mL/min pour décrocher les ^{68}Ga Ga-MAA et les envoyer dans le flacon final.
Passage de 10 mL d'air par le haut du filtre.

III. Validation du procédé de synthèse des $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-MAA}$

automatisé pour utilisation en routine clinique

La validation du procédé de synthèse des $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-MAA}$ pour utilisation en routine clinique a consisté à vérifier la fiabilité et la reproductibilité du procédé ainsi que la qualité du produit fini.

Pour cela 2 types de contrôles ont été nécessaires:

Les contrôles effectués uniquement pour la validation du procédé de synthèse.

Les contrôles utilisés pour l'évaluation de la fiabilité et de la reproductibilité du procédé ainsi que pour la libération des lots produits en routine.

A. Contrôles utilisés uniquement pour la validation du procédé

1. Intégrité des MAA après marquage

L'étude de la taille et de la structure des MAA marqués a permis de vérifier le maintien de l'intégrité des MAA durant le marquage. En effet, ces deux paramètres étaient essentiels pour le maintien des propriétés pharmacologiques lors du transfert des $[^{99\text{m}}\text{Tc}]\text{Tc-MAA}$ vers les $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-MAA}$.

a) *Taille*

Conformément à la monographie « Technétium ($^{99\text{m}}\text{Tc}$) (macrosalb-), suspension injectable de » de la Pharmacopée Européenne, La taille des MAA a été mesurée à l'aide d'un microscope optique Leica DM 1000 LED (Leica Microsystems SAS, Nanterre, France) et d'un hémocytomètre. La morphologie des MAA marqués a été étudiée avec un microscope électronique à balayage HITACHI S-3200N (HITACHI, Tokyo, Japon) avec le concours de la plateforme de microscopie de l'Université de Bretagne Occidentale (UBO) (Services communs de l'UBO, Brest, France).

La taille des $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-MAA}$ devait respecter les mêmes spécifications que celle des $[^{99\text{m}}\text{Tc}]\text{Tc-MAA}$, qui d'après la Pharmacopée Européenne étaient les suivantes : au maximum, 10 particules ont une taille supérieure à 100 μm et 0 particule supérieures ou égales à 150 μm .

Comme en témoignent les résultats du tableau 6, **tous les lots issus des synthèses de validation du procédé décrit précédemment ont respecté ces spécifications.**

	lot 1			lot 2		
	synthèse 1	synthèse 2	synthèse 3	synthèse 1	synthèse 2	synthèse 3
5 µm	0	0	0	0	0	0
10 µm	0	0	9	0	0	0
15 µm	0	0	0	10	0	0
20 µm	10	15	5	30	30	0
25 µm	26	50	36	40	30	40
30 µm	23	16	35	110	50	10
35 µm	36	13	18	40	30	40
40 µm	10	10	20	50	60	40
45 µm	10	25	13	50	20	10
50 µm	30	46	23	10	30	40
55 µm	20	0	4	20	20	0
60 µm	0	26	2	20	0	20
65 µm	10	0	2	0	0	0
70 µm	0	0	3	0	0	20
75 µm	16	13	5	0	0	0
80 µm	0	0	0	0	0	0
85 µm	0	10	1	0	0	0
90 µm	0	0	0	0	0	0
95 µm	0	0	0	0	0	0
100 µm	0	0	2	0	0	0
150 µm	0	0	0	0	0	0

Tableau 6 : Taille des MAA marqués en fonction des synthèses et des lots.

b) Structure

L'analyse de la structure a été réalisée sur un échantillon de quelques µL, par microscopie électronique à balayage (microscope électronique à balayage HITACHI S-3200N (HITACHI, Tokyo, Japon) grâce à la plateforme de microscopie de l'Université de Bretagne Occidentale (UBO) (Services communs de l'UBO, Brest, France). Les images des [⁶⁸Ga]Ga-MAA obtenues dans les conditions décrites au-dessus ont été comparées à celles des MAA de la trousse commerciale reconstituée avec 10 mL de NaCl 0,9%.

L'analyse visuelle des images obtenues par microscopie électronique à balayage a montré que le marquage des MAA avec le ^{68}Ga en utilisant la procédure de synthèse pour la routine clinique n'altérerait pas la structure macroscopique des MAA (Figures 7 et 8).

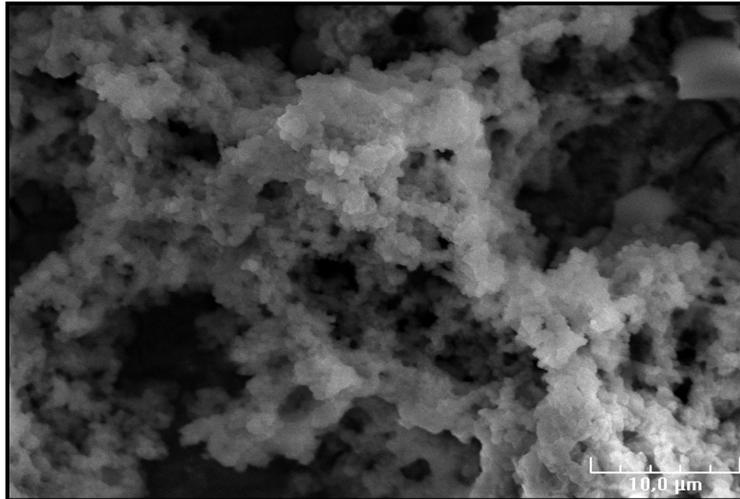


Figure 7 : MAA après reconstitution de la trousse commerciale avec 10 mL de NaCl 0,9%. Images réalisées avec un microscope à balayage électronique.

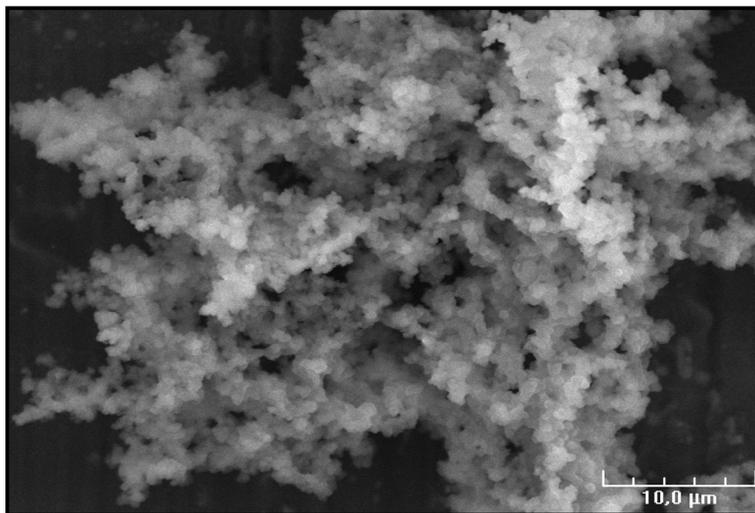


Figure 8 : MAA après marquage au ^{68}Ga avec la procédure de synthèse pour la routine clinique. Images réalisées avec un microscope à balayage électronique.

En synthèse, la procédure de marquage automatisée des MAA au ^{68}Ga décrite dans la partie précédente permettait de conserver à la fois la taille et la structure des MAA.

2. Composition du produit fini

La composition du produit fini a été étudiée afin de vérifier l'absence d'impuretés autres que le $^{68}\text{Ga}^{3+}$ ou le ^{68}Ga hydrolysé qui auraient pu être formées durant le procédé de synthèse.

a) *Etude de la composition*

L'analyse de la composition de la suspension finale de $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-MAA}$ a été réalisée sur un échantillon de quelques μL , par microscopie électronique à balayage (microscope électronique à balayage HITACHI S-3200N (HITACHI, Tokyo, Japon) couplée à une analyse par Energie Dispersive de rayons X (EDX) avec le concours de la plateforme de microscopie de l'Université de Bretagne Occidentale (UBO) (Services communs de l'UBO, Brest, France). La composition de 5 productions de MAA marqués a été comparée à celle des MAA non marqués reconstitués dans 10 mL de NaCl 0,9%. Par ailleurs, le support sur lequel ont été déposés les échantillons a également fait l'objet d'une analyse dans les mêmes conditions.

Cette technique n'a pas permis une analyse quantitative. Cependant, d'un point de vue qualitatif et dans les limites de la technique, la composition de la suspension de $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-MAA}$ et celle de la trousse reconstituée avec du NaCl 0,9% étaient identiques. En effet, comme le montre la figure 9 et sans grande surprise, le composant principal de la suspension de MAA non marqués et de la suspension de $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-MAA}$ était le NaCl. Par ailleurs, des atomes de soufre (S), carbone (C) et oxygène (O) ont également été retrouvés dans les 2 types de préparations, très certainement en lien avec la composition des acides aminés qui constituaient les MAA. En revanche, contre toute attente, **la suspension de $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-MAA}$ contenait toujours de l'étain alors que l'étape de purification devait permettre son élimination.**

Il a donc été décidé de doser l'étain restant dans la préparation afin d'évaluer l'efficacité de notre procédé de purification pour l'élimination de celui-ci.

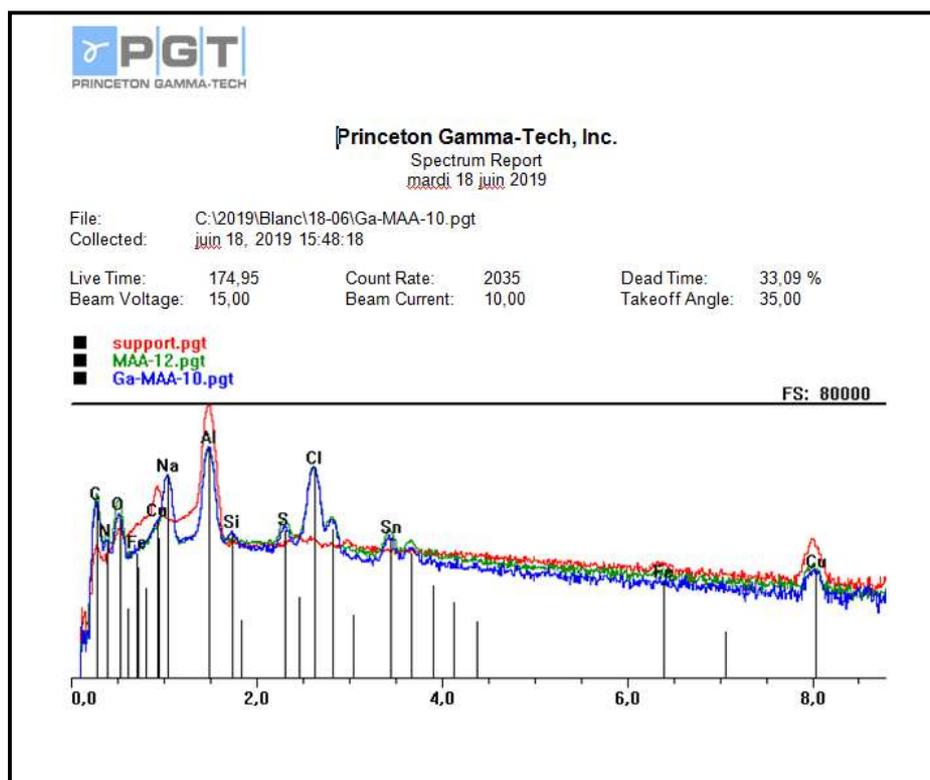


Figure 9 : Analyse par microscopie électronique à balayage couplée à une analyse EDX d'un échantillon de suspension de $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-MAA}$, de la trousse commerciale de MAA reconstituée avec du NaCl 0,9% et du support sur lequel étaient déposés les échantillons.

b) Dosage de l'étain

Le dosage de l'étain stanneux a été effectué sur 5 échantillons de $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-MAA}$. Ce dosage a été réalisé avec le concours du Pôle de Spectrométrie Océan (PSO, Brest, IUEM, France). Pour cela, les échantillons ont été transférés dans des béchers propres, en téflon et sans métaux. Chaque échantillon a été pesé puis acidifié avec 2 mL d'acide nitrique ultrapur 14N et chauffé à 100°C pendant 24 h pour les minéraliser. Puis les échantillons ont été évaporés à sec et remis en suspension dans 5 mL d'HCl 6N pour constituer les solutions stocks. La concentration en Sn^{2+} a été mesurée par Spectrométrie de Masse à Plasma Inductif Haute Résolution (ICP-MS-HR) de la manière suivante : 5 mL de solution stock ont été pesés et dilués à 10 mL avec de l'acide nitrique à 2,5% contenant un standard interne (indium à 1 ppb). Les concentrations en étain des échantillons ont été calculées à l'aide de standards externes de calibration. Un blanc dont la concentration en étain était en dessous de la limite de détection (<0,002 ppb) a été mesuré avec les échantillons.

Ce dosage a permis de montrer que le procédé de purification, à défaut d'éliminer la totalité de l'étain présent dans la trousse utilisée pour le marquage, permettait d'en diviser la quantité par 10 (tableau 7).

Ce résultat allait dans le sens de Jain et al. qui, par leur étude réalisée en 2016, suggéraient que le SnCl₂ présent dans les trousse commerciales de MAA jouait un rôle non négligeable dans la réaction de marquage des MAA par le ⁶⁸Ga (26).

Echantillon	Concentration en Sn dans le produit fini (mg/g)	Quantité de Sn dans le produit fini (mg)	Quantité totale de Sn dans la trousse commerciale avant marquage au ⁶⁸ Ga (mg)
1	2,96	0,0296	0,21
2	2,44	0,0244	0,21
3	1,80	0,0180	0,21
4	2,07	0,0207	0,21
Moyenne	2,3	0,0232	
Ecart type	0,5	0,0050	

Tableau 7 : Résultats du dosage de l'étain dans 5 suspensions de [⁶⁸Ga]Ga-MAA préparées avec le procédé de synthèse automatisé pour la routine clinique.

c) En résumé

La microscopie électronique à balayage couplée à une analyse EDX n'a pas mis en évidence, dans les limites de la technique, d'impuretés issues de la synthèse dans les suspensions de [⁶⁸Ga]Ga-MAA préparées avec le procédé automatisé mis au point pour la routine clinique.

Contrairement, à ce qui était espéré, l'étape de purification du procédé de synthèse ne permettait pas d'éliminer la totalité du SnCl₂ présent au départ dans la trousse commerciale mais il divisait tout de même sa quantité par 10.

3. Etude de l'interaction des composants de la cassette avec le produit fini

Dans le processus de validation du procédé de synthèse, il était important de vérifier qu'il n'existait pas d'interaction entre les composants de la cassette et le produit fini. Deux types d'interactions devaient être contrôlés :

La possibilité pour les composants de la cassette d'adsorber le ^{68}Ga , ce qui aurait pour effet de diminuer les rendements de synthèse car la quantité de ^{68}Ga disponible serait plus faible.

La possibilité pour les composants de la cassette de libérer des particules lors de la synthèse qui constitueraient des impuretés dans le produit fini.

Les composants des cassettes étaient constitués de matériaux qui avaient pour propriété de ne pas relarguer de métaux. En effet, la cause première d'interférences lors de la synthèse du ^{68}Ga Ga-MAA était la présence d'ions métalliques qui auraient pu entrer en compétition avec le $^{68}\text{Ga}^{3+}$ et faire chuter le rendement de marquage. Pour illustration, le flacon réacteur contenu dans la cassette était en verre SiO_2 .

Par ailleurs, une étude d'osmolalité du produit fini a été utilisée pour mettre en évidence l'éventuelle présence de telles particules dans la suspension de ^{68}Ga Ga-MAA.

a) Adsorption de la radioactivité sur les composants de la cassette

L'étude de l'adsorption de la radioactivité sur les composants de la cassette a été réalisée par mesure de la radioactivité des composants ayant la plus grande probabilité d'adsorption. Les mesures ont été effectuées avec un activimètre Capintec CRC[®] 55t étalonné pour le ^{68}Ga sur 3 productions faites avec le procédé de synthèse pour la routine clinique validé précédemment.

Les résultats présentés dans le tableau 8 ont été comparés à la radioactivité approximative de l'éluat après correction de la décroissance.

Lot du produit fini	2019/00897			2018/01550			2018/01585		
Activité approximative de 3 mL d'éluat (MBq)	895 à 10h14			900,9 à 07h40			664,3 à 07h39		
Répartition de la radioactivité à la fin du procédé de fabrication	MBq	Heure de mesure	% de l'activité éluee	MBq	Heure de mesure	% de l'activité éluee	MBq	Heure de mesure	% de l'activité éluee
Produit fini	670	10h28	86,4	679	07h54	87	488	07h52	83,9
Flacon réacteur	10,23	10h44	1,76	9,05	08h09	1,35	12,76	08h07	2,56
Flacon déchets	11,35	10h46	1,55	19,62	08h05	2,81	14,1	08h04	2,74
Filtre	2,2	10h45	0,34	2,88	08,08	0,43	1,303	08h08	0,26

Tableau 8 : Résultats des mesures d'adsorption. Tous les résultats sont ramenés à l'heure de fin de synthèse.

Les résultats présentés dans le tableau 8 témoignent d'une adsorption négligeable (toujours inférieure à 3% de l'activité de départ de l'éluat de ^{68}Ga) de la radioactivité sur les composants les plus sensibles de la cassette.

b) Osmolalité du produit fini

L'osmolalité de 3 lots de validation a été comparée à l'osmolalité du NaCl 0,9% qui composait très majoritairement le produit fini. Les mesures ont été réalisées par cryométrie (*3250 Osmometer Advanced Instrument*) au laboratoire de pharmaco-toxicologie du CHRU de Brest. L'osmolalité du NaCl 0,9% mesurée par le laboratoire brestois était de 284 mOsm/kg d'eau.

Comme indiqué dans le tableau 9, l'osmolalité des 3 lots de ^{68}Ga]Ga-MAA était quasiment identique à l'osmolalité du NaCl 0,9% mesurée dans les mêmes conditions. Sachant que l'albumine n'influence pas l'osmolalité d'une solution, le NaCl 0,9% était alors le seul composant du produit fini à considérer pour cette mesure.

Lot du produit fini	Osmolalité mesurée en mosm/kg d'eau
2019/00897	282
2019/00900	279
2019/00925	282

Tableau 9 : Résultats de l'osmolalité mesurée sur les produits finis de 3 lots de validation.

Les résultats d'osmolalité des produits testés étaient identiques à l'osmolalité du NaCl 0,9% permettant ainsi de conclure qu'aucune particule ayant un impact sur l'osmolalité du produit fini n'était émise par les composants de la cassette.

En synthèse, aucune interaction entre les composants de la cassette et le produit fini n'a été mise en évidence.

4. Etude de stabilité des $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-MAA}$
 - a) *Stabilité in vitro dans le NaCl 0,9%*

La stabilité *in vitro* dans le NaCl 0,9% a été déduite de la comparaison des résultats des contrôles de Pureté RadiodioChimique (PRC) et de Radioactivité des Particules Non Filtrables (RPNF) à T=3h (= 3h après la fin de la préparation) à ceux des mêmes contrôles effectués à T=0 (= immédiatement après la fin de la préparation). La méthode de ces 2 types de contrôle a été décrite dans la sous partie B de cette partie II. Les produits finis de 2 lots de 3 synthèses de validation ont été testés.

Les résultats présentés dans le tableau 10 ne montraient pas de dégradation de la PRC ou de la RPNF des suspensions de $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-MAA}$ dans les 3h suivant la fin de la synthèse. **Le marquage des MAA par le ^{68}Ga pouvait donc être considéré comme stable dans le NaCl 0,9% sur cette période.**

Lot du produit fini	PRC en %		RPNF en %	
	T0	T3h	T0	T3h
2018/01514	100,0	100,0	99,1	99,2
2018/01550	99,3	98,5	98,9	97,8
2018/01585	98,4	98,2	97,7	98,7
2019/0097	98,6	97,3	97,8	99,6
2019/00900	99,0	100,0	99,2	97,8
2019/00925	98,8	99,1	98,7	99,2

Tableau 10 : Résultats des contrôles de PRC et RPNF à T0 et T3h post synthèse des produits finis issus de 2 lots de 3 synthèses de validation.

b) Stabilité in vitro dans le sérum humain

Pour obtenir le sérum humain, un prélèvement de sang réalisé sur tube sec a été centrifugé à 3000 Tr/min pendant 10 min. Cent µl de suspension de [⁶⁸Ga]Ga-MAA ont ensuite été introduits dans 900 µL de sérum humain. Le mélange a alors été incubé à 37°C dans une étuve. Des contrôles de PRC ont été réalisés 15, 30, 45, 60 et 90 min après la mise en contact avec le sérum.

Un contrôle de PRC a été réalisé immédiatement avant la mise en contact des [⁶⁸Ga]Ga-MAA avec le sérum (=T0). Les résultats ont été exprimés en % de ⁶⁸Ga libre détecté à partir du T0 (tableau 11).

Trois lots issus de 3 productions différentes.

Temps de contact avec le sérum humain (min)	% de ⁶⁸ Ga libre		
	Lot 1	Lot 2	Lot 3
0	0	0	0
15	6	32	17,1
30	28	23,6	33,2
45	34	33,7	31,5
60	49	28,8	31,4
90	58	23,6	36,1

Tableau 11 : Pourcentage de ⁶⁸Ga libre détecté par PRC en fonction du temps de contact avec le sérum humain.

Les résultats du tableau 11 ont montré **un relargage d'environ 30% de ^{68}Ga dans le sérum humain dès la 15^e minute de contact qui restait relativement stable au cours du temps**. Ces données étaient en accord avec celles de Jain et al. qui obtenaient une PRC de $70,1 \pm 2,4\%$ dans le sérum de rat soit un relargage d'environ 30% après 45 min à 37°C (26). En revanche, avec un procédé de marquage sensiblement identique à celui décrit ici, Ament et al. mentionnaient un relargage de ^{68}Ga qui restait inférieur à 2% jusqu'à 4h après incubation dans le plasma humain.

Plusieurs hypothèses pouvaient être soulevées pour expliquer les résultats présentés dans ce travail. La première était liée au fait que la transferrine a une forte affinité pour le ^{68}Ga favorisant ainsi les phénomènes de transchélation si la liaison ^{68}Ga -MAA n'est pas suffisamment stable (17, 18, 54). La seconde concernait la stabilité de la liaison ^{68}Ga -MAA au pH sanguin (= 7,4). En effet, il a été montré que la préparation de ^{68}Ga -MAA était stable pendant au moins 3 h dans le NaCl 0,9% soit à un pH compris entre 4,4 et 4,7. En revanche, la stabilité à des pH différents n'a pas été étudiée. Cependant, nous savions que des variations de pH au-delà de 4 entraînaient des modifications de conformation de l'albumine qui pouvaient très probablement avoir une influence sur la stabilité de la liaison du ^{68}Ga aux MAA.

c) Stabilité en fonction du pH du produit fini

Devant les résultats de stabilité *in vitro* dans le sérum humain, la stabilité de la liaison entre le ^{68}Ga et les MAA en fonction du pH de la suspension a été étudiée pour des pH allant de 1,6 à 9 afin d'essayer de mieux comprendre la nature de cette liaison. Pour cela, une première suspension de produit fini a été acidifiée en ajoutant le volume nécessaire d'HCl 1N (VWR chemicals) pour obtenir les pH compris entre 4,4 (pH de départ) et 1,6. Les pH basiques allant de 4,4 (pH de départ) à 9 d'une seconde suspension de ^{68}Ga -MAA ont été obtenus par l'introduction d'hydroxyde de sodium 1N (NaOH) (VWR chemicals) en quantité suffisante pour atteindre le pH souhaité. La stabilité de la liaison a été étudiée par un contrôle de PRC réalisé pour chaque pH cible.

A		B	
PH	PRC (%)	PH	PRC (%)
4,4	98,4	4,4	97,7
3,4	97,8	5	99
3,0	98,7	6,5	79
2,6	97,2	7,7	63
2,0	99,3	9	59
1,6	100		

Tableau 12 : PRC des suspensions de [⁶⁸Ga]Ga-MAA en fonction du pH des suspensions (A : test aux pH acides, B : test aux pH basique)

D'après les résultats présentés dans le tableau 12, **la liaison entre le ⁶⁸Ga et les MAA restait stable pour des pH inférieurs ou égaux à 5**. En revanche, on notait **une diminution de la PRC pour des pH supérieurs à 5** avec un pourcentage de ⁶⁸Ga libre augmentant avec le pH. Notons, que pour un pH proche du pH sanguin (7,7 dans le tableau 12), le pourcentage de ⁶⁸Ga libre était d'environ 30% soit dans les mêmes proportions que les valeurs trouvées lors de la mise en contact des [⁶⁸Ga]Ga-MAA avec le sérum. D'après ces résultats, le pH semblait avoir une forte influence sur la liaison entre le ⁶⁸Ga et les MAA, suggérant qu'il s'agissait d'une liaison faible en lien avec la conformation de l'albumine composant les MAA.

d) *En synthèse*

Les [⁶⁸Ga]Ga-MAA préparés selon notre procédé de synthèse étaient stables *in vitro* dans du NaCl 0,9% pendant 3h.

Dans le sérum humain, les [⁶⁸Ga]Ga-MAA libéraient rapidement environ 30% de ⁶⁸Ga. Ce taux restait globalement stable durant les 90 min suivantes.

Par ailleurs, la liaison entre le ⁶⁸Ga et les MAA semblait dépendante du pH du milieu suggérant une liaison faible entre ces deux entités.

B. Les contrôles qualité du produit fini utilisés en routine

Dans cette partie, les contrôles ont été traités dans leur globalité, c'est-à-dire le choix et la validation des spécifications ainsi que la description et la validation des procédures analytiques utilisées pour obtenir les résultats des contrôles.

La fiabilité et la reproductibilité du procédé de synthèse ont été évaluées sur la base des RS et des résultats des contrôles du produit fini obtenus avec 2 lots de 3 synthèses. Les générateurs de $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ et les solutions d'acétate de sodium ont été changés entre les 2 lots de synthèses.

1. La radioactivité des particules non filtrables

La radioactivité des particules non filtrables a été quantifiée à partir de la proportion de radioactivité liée aux particules de taille supérieure à 3 μm . Ce contrôle appartenait aux contrôles décrits par la Pharmacopée Européenne pour les $^{99\text{m}}\text{Tc}$]Tc-MAA. Les propriétés des ^{68}Ga]Ga-MAA devant être identiques à celle des $^{99\text{m}}\text{Tc}$]Tc-MAA, notamment en terme de taille, ce contrôle devait également être appliqué aux ^{68}Ga]Ga-MAA.

a) *Description et validation de la méthode analytique*

La méthode utilisée était celle décrite dans la Pharmacopée Européenne. Elle était donc validée de fait.

Pour des raisons de radioprotection, environ 20 μL du produit fini dilués à 1 mL avec du NaCl 0,9% ont été déposés sur une membrane en polycarbonate de 25 mm de diamètre ayant des pores de 3 μm Whatman® Nuclepore™ (Merck GaA, Darmstadt, Allemagne).

La membrane et le filtrat ont été comptés à l'aide d'une sonde NaI(Tl) 3 pouces puits (Canberra, France) dans la même géométrie de comptage qui a été choisie de manière à respecter un temps mort inférieur à 5%.

L'activité à la fois du filtre et du filtrat ont permis de calculer le pourcentage de radioactivité des particules non filtrables (= particules déposées sur le filtre) de la manière suivante :

$$(\text{activité filtre} / (\text{activité du filtre} + \text{activité du filtrat})) \times 100$$

b) Choix et justification des spécifications

La monographie « Technétium (99mTc) (macrosalb-), suspension injectable de » de la Pharmacopée Européenne indiquait que la radioactivité des particules non filtrables devait représenter au minimum 90% de la radioactivité totale.

Des tests référence de détermination de la radioactivité non filtrable ont donc été réalisés avec :

2 échantillons de ^{68}Ga libre en HCl 0,1N.

2 échantillons de ^{68}Ga hydrolysé obtenus en ajoutant 1 mL d'hydroxyde de sodium à 4 g/l à 1 mL d'éluat de ^{68}Ga . Un contrôle sur papier pH a permis de vérifier que le pH de la solution était supérieur à 7.

La totalité du ^{68}Ga libre et du ^{68}Ga hydrolysé devaient être retrouvés dans le filtrat. Cependant les tests références ont montré que 2% du $^{68}\text{Ga}^{3+}$ et 2% du ^{68}Ga hydrolysé restaient sur le filtre (figures 10 et 11) qui devait également retenir les ^{68}Ga Ga-MAA. Ces résultats indiquaient donc qu'en cas de présence de ^{68}Ga libre ou ^{68}Ga hydrolysé dans le produit fini, le test de radioactivité des particules non filtrables permettrait de détecter au moins 98% de chaque espèce chimique ou ne détectait pas au plus 2% de chaque espèce chimique. Par conséquent, en considérant les 4% d'impuretés potentielles non filtrées (2% de ^{68}Ga libre + 2% de ^{68}Ga hydrolysé), une radioactivité des particules non filtrables (= ^{68}Ga Ga-MAA) supérieure ou égale à 94% de la radioactivité totale permettait d'assurer que la radioactivité liée aux ^{68}Ga Ga-MAA était supérieure ou égale à 90%.

La spécification du contrôle de la radioactivité des particules non filtrables a donc été fixée à 94% et plus.

A

radioactivité filtrable 68Ga libre					Date imp : 02/11/2018 17:03	
fait le :		jour :	heure :		générateur de Ga utilisé : lot :	
02-nov-18		vend	9h30		10056-ELGE 10	
					calibré le	
					2018/021118	
					02/11/2018	
					Heure de fin de préparation	
					10h	
		bf1	bf2			
		494	494	494		
68Ga-libre <3µm				Dépôt	Temps	
filtre 3 µm				3 µL	4Min	
L= 2,5 cm	Ga3+	BF	C-BF	%		
filtrat	222923	494	222429	98%		
filtre	4318	494	3824	2%		
Total	227241		226253			
68Ga-libre<3µm				98%		
				68Ga-libre<3µm		
				98%		
				conformité		
				C		

B

radioactivité filtrable 68Ga libre					Date imp : 23/11/2018 16:22	
fait le :		jour :	heure :		générateur de Ga utilisé : lot :	
08-nov-18		jeudi	9h30		10056-ELGE 10	
					calibré le	
					2018/081118	
					08/11/2018	
					Heure de fin de préparation	
					9h30	
		bf1	bf2			
		48	48	48		
68Ga-libre <3µm				Dépôt	Temps	
filtre 3 µm				3 µL	4Min	
L= 2,5 cm	Ga3+	BF	C-BF	%		
filtrat	94091	48	94043	98%		
filtre	1662	48	1614	2%		
Total	95753		95657			
68Ga-libre<3µm				98%		
				68Ga-libre<3µm		
				98%		
				conformité		
				C		

Figure 10 : Résultats du test de radioactivité des particules non filtrables sur le $^{68}\text{Ga}^{3+}$ utilisé comme référence (A : échantillon 1, B: échantillon 2).

A

radioactivité filtrable 68Ga hydrolysé					Date imp : 02/11/2018 17:05					
fait le :		jour :		heure :		générateur de Ga utilisé : lot :		10056-ELGE 10		
02-nov-18		vend		9h30		calibré le		15/06/2018		
						⁶⁸ Ga-MAA lot		2018/021118		
						exp		02/11/2018		
						Heure de fin de préparation		10h		
		bf1		bf2						
		494		494		494				
⁶⁸ Ga-hydrolysé <3µm					Dépôt		Temps			
filtre 3 µm					3 µL		4Min			
L= 2,5 cm		Ga3+		BF		C-BF		%		
filtrat		19635		494		19141		98%		
filtre		935		494		441		2%		
Total		20570				19582				
68Ga-hydroL<3µm					98%					
						68Ga-hydroL<3µm		98%		
						conformité		C		

B

radioactivité filtrable 68Ga hydrolysé					Date imp : 02/11/2018 17:05					
fait le :		jour :		heure :		générateur de Ga utilisé : lot :		10056-ELGE 10		
08-nov-18		jeudi		9h30		calibré le		15/06/2018		
						⁶⁸ Ga-MAA lot		2018/081118		
						exp		08/11/2018		
						Heure de fin de préparation		9h30		
		bf1		bf2						
		48		48		48				
⁶⁸ Ga-hydrolysé <3µm					Dépôt		Temps			
filtre 3 µm					3 µL		4Min			
L= 2,5 cm		Ga3+		BF		C-BF		%		
filtrat		619536		48		619488		98%		
filtre		9655		48		9607		2%		
Total		629191				629095				
68Ga-hydroL<3µm					98%					
						68Ga-hydroL<3µm		98%		
						conformité		C		

Figure 11 : Résultats du test de radioactivité des particules non filtrables sur le ⁶⁸Ga hydrolysé utilisé comme référence (A : échantillon 1, B: échantillon 2).

2. La Pureté radiochimique

a) *Description et validation de la méthode analytique*

Le contrôle de PRC a été réalisé par Chromatographie sur Couche Mince (CCM) sur des bandes ITLC-SG (PALL Life Sciences, NY). Sur la base des contrôles de PRC réalisés sur d'autres MRP marqués au ^{68}Ga (^{68}Ga]Ga-PSMA, ^{68}Ga]Ga-DOTATOC), 2 phases mobiles ont été testées : le citrate de sodium 0,1M pH 5 et le mélange acétate d'ammonium (AcONH_4) / méthanol (MeOH) 50/50 v:v. L'analyse de la répartition de la radioactivité sur les bandes de chromatographie et le pourcentage de PRC ont été obtenus à l'aide du miniGITA TLC et du logiciel dédié (Raytest, Straubenhardt, Allemagne) distribué par Elysia (Angleur, Belgique).

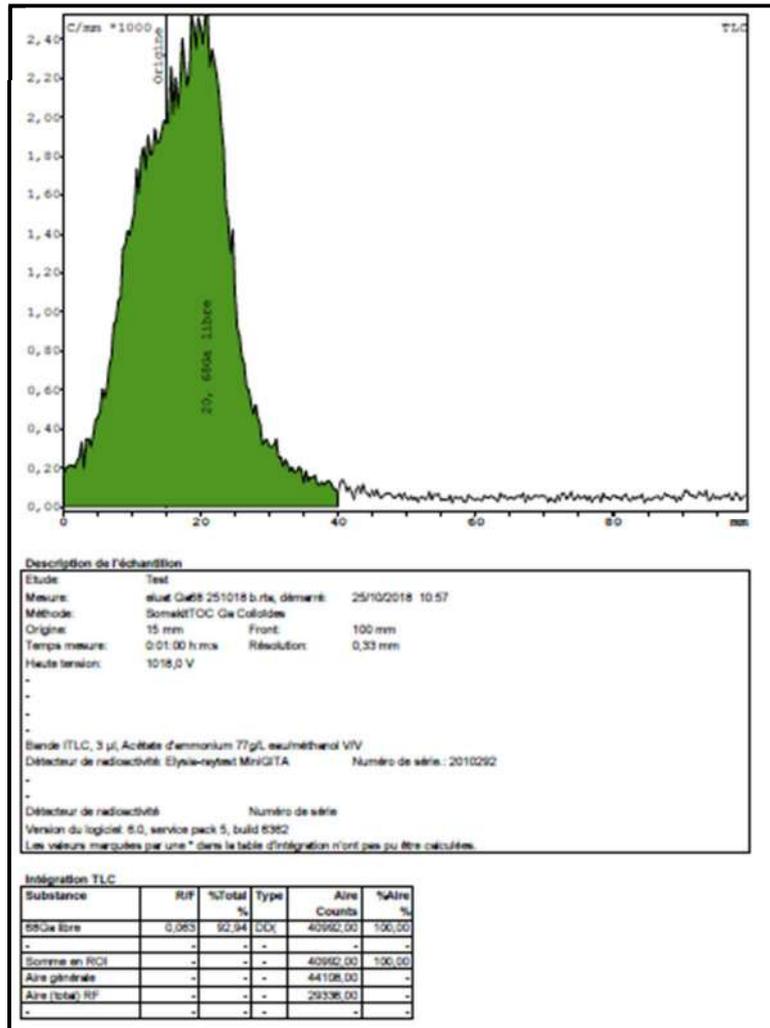
Les impuretés recherchées avec ce contrôle étant le $^{68}\text{Ga}^{3+}$ et le ^{68}Ga hydrolysé, le contrôle de PRC utilisant chacun des solvants de migration a été testé avec :

1 échantillon de ^{68}Ga libre en HCl 0,1N.

1 échantillon de ^{68}Ga hydrolysé obtenu en ajoutant 1 mL d'hydroxyde de sodium à 4 g/l à 1 mL d'éluat de ^{68}Ga . Un contrôle sur papier pH a permis de vérifier que le pH de la solution était supérieur à 7.

Avec le mélange $\text{AcONH}_4/\text{MeOH}$ 50/50 v:v, le $^{68}\text{Ga}^{3+}$ n'a pas migré alors que le Rapport Frontal (RF) était compris entre 0,9 et 1 en utilisant le citrate de sodium 0,1M pH 5 (figure 12). **Le citrate de sodium 0,1M pH 5 a donc été retenu comme solvant de migration pour mettre en évidence la présence de $^{68}\text{Ga}^{3+}$.**

A



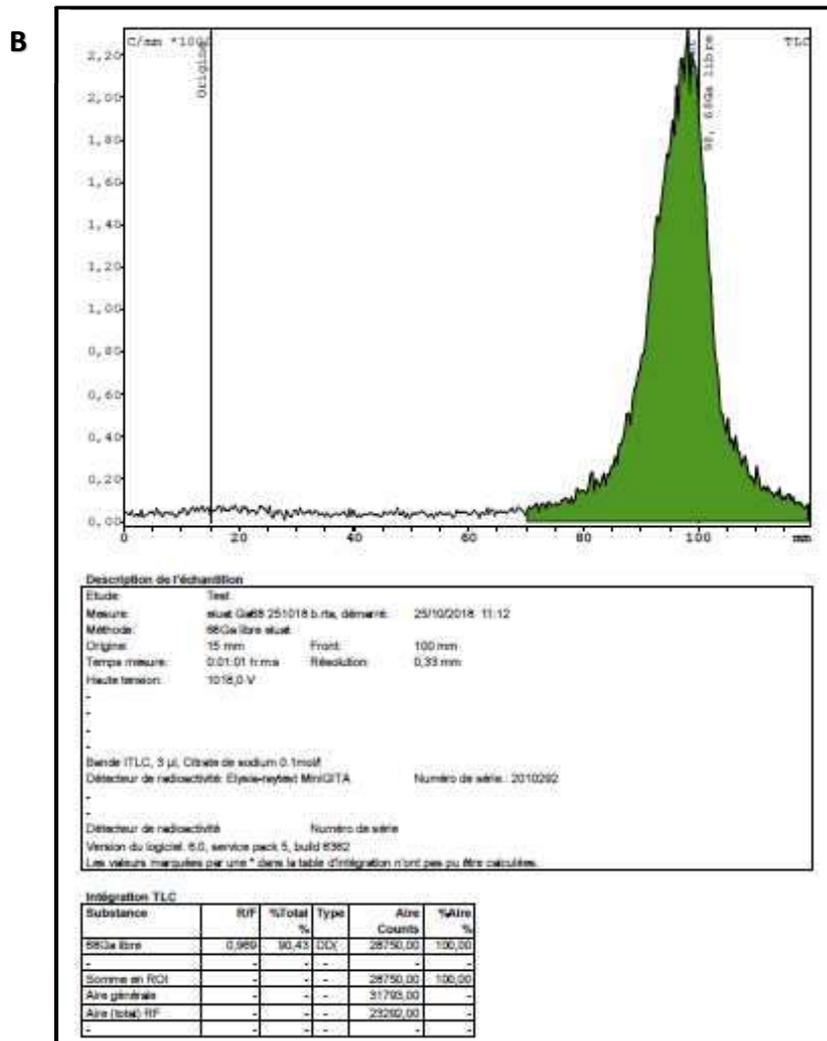
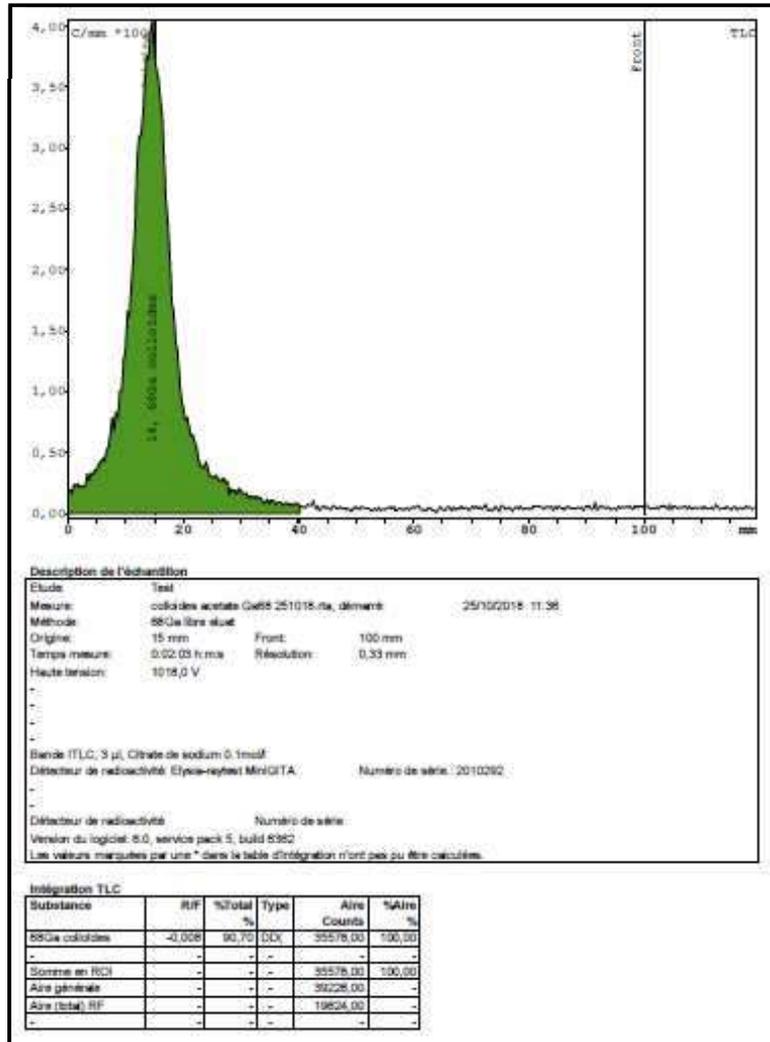


Figure 12 : Résultats de la CCM réalisée avec l'échantillon d'éluat de ^{68}Ga pour mettre en évidence le $^{68}\text{Ga}^{3+}$ libre, en utilisant le mélange $\text{AcONH}_4/\text{MeOH}$ 50/50 (A) et citrate de sodium 0,1M pH 5 (B) comme solvant de migration. La lecture de la bande ITLC est réalisée avec un radiochromatographe miniGita, Raytest®.

Le RF obtenu avec la CCM utilisant le $\text{AcONH}_4/\text{MeOH}$ 50/50 v:v comme solvant de migration pour le ^{68}Ga hydrolysé était d'environ 2 alors celui obtenu avec le citrate de sodium 0,1M pH 5 était de 0,9-1 (figure 13).

Ainsi l'utilisation du citrate de sodium 0,1M pH 5 permettait de séparer le ^{68}Ga hydrolysé et le $^{68}\text{Ga}^{3+}$

A



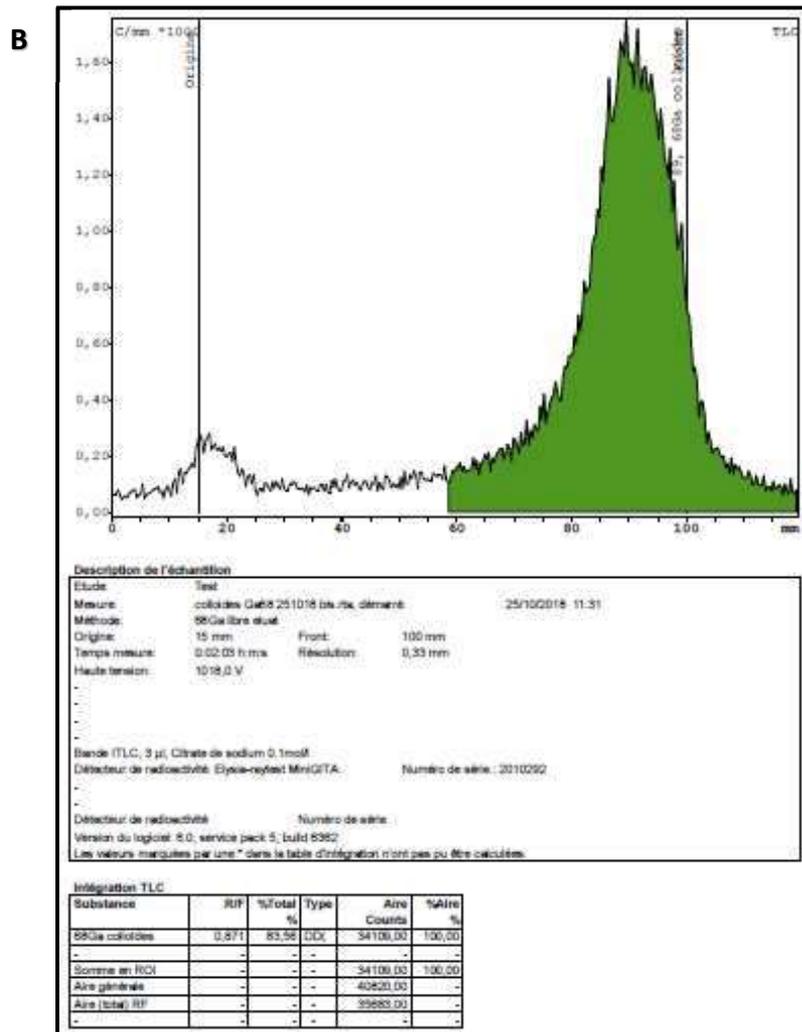


Figure 13 : Résultats de la CCM réalisée avec l'échantillon de ^{68}Ga hydrolysé, en utilisant le mélange $\text{AcONH}_4/\text{MeOH}$ 50/50 (A) et citrate de sodium 0,1M pH 5 (B) comme solvant de migration. La lecture de la bande ITLC est réalisée avec un radiochromatographe miniGita, Raytest®.

Par ailleurs, une CCM test utilisant le citrate de sodium 0,1M pH 5 a été réalisée avec une suspension de ^{68}Ga Ga-MAA afin de s'assurer que les MAA marqués ne migraient pas avec le même RF que les impuretés recherchées. La figure 14 montre que dans les conditions retenues, les ^{68}Ga Ga-MAA restaient au point de dépôt avec un RF compris entre 0 et 0,3.

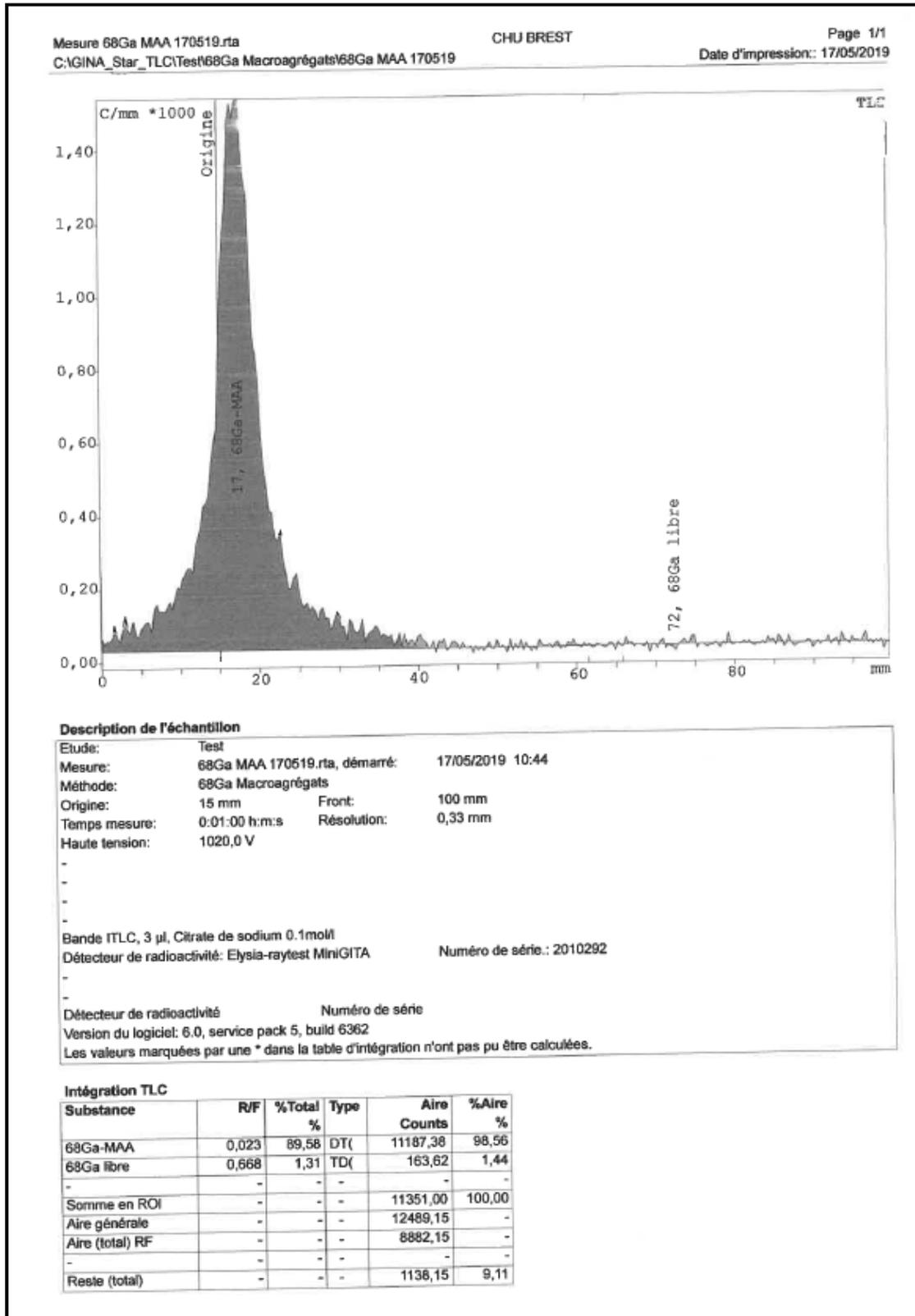


Figure 14 : Résultats de la CCM réalisée avec un échantillon de $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-MAA}$, en citrate de sodium 0,1M pH 5 comme solvant de migration. La lecture de la bande ITLC est réalisée avec un radiochromatographe miniGita, Raytest®.

b) *Choix et justification des spécifications*

Etant donné que le contrôle de pureté radiochimique permettait de quantifier les mêmes impuretés que le test de radioactivité des particules non filtrables, **la valeur de PRC à atteindre a été fixée à 94% au moins.**

3. La Pureté RadioNucléidique (PRN)

Le contrôle de PRN visait à quantifier le pourcentage de radioactivité que représentait le ^{68}Ga dans la préparation.

a) *Description et validation de la méthode analytique*

Environ 100 μL de la solution de ^{68}Ga]Ga-MAA ont été introduits dans un flacon de 1000 μL . L'activité de l'échantillon a été mesurée à l'aide de l'activimètre Capintec CRC 55t étalonné pour le ^{68}Ga .

Le taux de ^{68}Ge a été obtenu par comptage en 200s de l'échantillon après au moins 48h de décroissance, dans le puits d'un spectromètre gamma équipé d'une sonde NaI(Tl) puits (Canberra, France).

L'activité résiduelle en ^{68}Ge a été calculée à l'aide de l'efficacité de comptage de la sonde NaI puits et exprimée en pourcentage de l'activité initiale de l'échantillon.

La linéarité des mesures obtenues pour le ^{68}Ga avait préalablement été vérifiée à l'aide à l'aide d'une gamme d'étalonnage (5-9000 Bq) préparée à partir d'un éluat de ^{68}Ga d'activité connue (mesure avec l'activimètre Capintec CRC 55t).

La même gamme d'étalonnage avait également permis de déterminer l'efficacité de comptage de la sonde NaI pour le ^{68}Ga dans la géométrie de comptage décrite plus haut.

Le taux de ^{68}Ge après décroissance de l'échantillon (48h minimum) a été obtenu par la mesure du nombre de coups comptés inhérents au ^{68}Ga . En effet, après 48h de décroissance, les atomes de ^{68}Ga étaient en équilibre avec les atomes de ^{68}Ge présents initialement dans l'échantillon.

En prenant un seuil limite de ^{68}Ge de 0,001% (RCP du générateur GalliaPharm®) le seuil limite en ^{68}Ge d'un échantillon de 13 MBq d'éluat de ^{68}Ga (= 50 μL d'éluât issu d'un générateur de 1850 MBq en début de vie) serait de 126,9 Bq. Cette valeur était bien comprise dans la zone de linéarité du compteur gamma. Sachant que l'efficacité de comptage du spectromètre était de 35%, cela correspondait à une mesure d'environ 2665 Coups Par Minute (cpm) soit 121,7 fois le bruit de fond. A noter que pour un échantillon de 4 MBq (fin de vie du générateur), une activité de 0,001% de ^{68}Ge correspondrait à une mesure d'environ 840 cpm soit 38 fois le bruit de fond.

b) Choix et justification des spécifications

Le taux de ^{68}Ge acceptable dans la préparation de [^{68}Ga]Ga-MAA a été fixé à 0,001%.

En effet, d'après la Pharmacopée Européenne, le taux de ^{68}Ge dans un éluât de ^{68}Ga ne devait pas dépasser 0,001%. Sachant que l'éluat de ^{68}Ga était l'une des matières premières utilisées pour la fabrication des [^{68}Ga]Ga-MAA, le produit fini ne devait donc pas contenir plus de ^{68}Ge que l'éluat, lui-même. Par ailleurs, la Pharmacopée Européenne a fixé le taux de ^{68}Ge acceptable dans une préparation de [^{68}Ga]Ga-DOTATOC à 0,001%. Il semblait donc pertinent de conserver cette valeur pour la préparation de [^{68}Ga]Ga-MAA.

4. Stérilité et taux d'endotoxines bactériennes

a) Description et validation des méthodes analytiques

Les contrôles de stérilité et d'endotoxines ont été réalisés à partir d'un échantillon de 2,5 mL de produit fini envoyé au service d'hygiène du CHRU de Brest après décroissance.

La stérilité a été contrôlée d'après la monographie 20.601 de la 9^e édition de la Pharmacopée Européenne. 9,5 mL de bouillon trypticase soja et 9,5 mL de bouillon thioglycolate ont été inoculés avec 0,5 mL chacun de la suspension de [^{68}Ga]Ga-MAA. Les bouillons ont été incubés 14 jours à 22°C et 30°C, respectivement. Cette méthode étant celle décrite dans la Pharmacopée Européenne, elle était validée de fait.

Le taux d'endotoxines a été contrôlé grâce à la technique colorimétrique Endosafe®-Nexgen PTS (Charles River, Ecully, France) validée par le laboratoire d'hygiène du CHRU de Brest.

b) Choix et justification des spécifications

Le produit fini devait être stérile. Ce contrôle était très important à la fois pour la sécurité du patient mais également pour la validation du procédé. En effet, la taille des MAA n'étant pas compatible avec une filtration stérilisante finale, la seule possibilité d'obtenir un produit fini stérile était de travailler dans des conditions aseptiques avec des réactifs stériles en maîtrisant l'environnement de travail.

Concernant le taux d'endotoxines acceptable, il était défini par la Pharmacopée Européenne comme étant de 2,5 Unités Internationales (UI)/Kg/volume maximal administrable.

Seuls des adultes pouvaient bénéficier d'une TEP pulmonaire, il était donc très peu probable que les [⁶⁸Ga]Ga-MAA soient administrés à des patients pesant moins de 35 kg.

Par ailleurs, la concentration minimale de la préparation ne pouvant pas être inférieure à 30 MBq/mL (afin de respecter le nombre maximal de macroagrégats administré au patient), le volume maximal administrable était de 1,7 mL.

Dans ces conditions, le taux d'endotoxines dans les [⁶⁸Ga]Ga-MAA ne devait pas dépasser 51,4 UI/mL.

5. En synthèse

Les contrôles de routine et leurs spécifications sont réunis dans le tableau 13.

Critère	Spécifications
Caractères organoleptiques	Suspension blanche pouvant se séparer au repos
Volume final	10 mL ± 0,5mL
Activités finales	300 à 1150 MBq
Radioactivité des particules non filtrables	≥ 94%
PRC ITLC: ⁶⁸ Ga-MAA ⁶⁸ GaCl ₃ + ⁶⁸ Ga colloïdes	≥ 94% ≤ 6%
pH	3,8 à 7,5
Détermination du T _{1/2}	62 à 74 min
Taux de Germanium 68*	<0,001%
Spectrométrie gamma	Pics centrés sur 511 KeV et 1077 KeV
Stérilité*	Absence de prolifération microbienne
Endotoxines bactériennes*	< 51,4 UI/mL

Tableau 13 : Contrôles et spécifications des contrôles réalisés sur les [⁶⁸Ga]Ga-MAA.

*Contrôles post-libératoires.

Les caractères organoleptiques et le volume final ont été définis de fait par les paramètres du procédé de synthèse.

L'activité finale a été choisie en fonction du nombre de MAA maximal à administrer par patient.

Les valeurs du pH étaient celles données par la Pharmacopée Européenne pour la suspension de [^{99m}Tc]Tc-MAA car la composition des produits finis [⁶⁸Ga]Ga-MAA et [^{99m}Tc]Tc-MAA était très proche (essentiellement des MAA et du NaCl 0,9%).

Les valeurs de la période physique ($T_{1/2}$) étaient celles données par la Pharmacopée Européenne pour l'éluat de ^{68}Ga .

C. Reproductibilité et fiabilité du procédé

La reproductibilité et la fiabilité du procédé pour utilisation en routine clinique ont été évaluées en réalisant 2 séries de 3 synthèses.

Le générateur de $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ a été changé et les solutions d'acétate de sodium 0,2M refaites entre chaque lot de 3 synthèses.

Les critères de jugement retenus ont été: le RScd de chaque production, la PRC, la RPNF, la stérilité et le taux d'endotoxines des produits finis issus des 2 séries de 3 synthèses espacées de 6 mois.

Les rendements de synthèses (RS) ont été calculés d'après la formule suivante :

$$(\text{activité du produit fini} / \text{activité d'éluat disponible en début de synthèse}) \times 100.$$

La reproductibilité et la fiabilité du procédé testé étaient validés si les RScd étaient supérieurs à 80%, si toutes les suspensions de $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-MAA}$ issues des 2 lots de 3 synthèses étaient conformes aux spécifications définies dans le chapitre précédent et si aucune des synthèses consécutives d'une même série n'avait échoué.

Série	Lots	RScd en %	PRC en %	RPNF en %	Stérile	Taux d'endotoxines en UI/mL	PRN en % de ^{68}Ge
1 (11/2018)	2018/01514	81	100,0	99,1	Oui	< 5	<0,001
	2018/01550	86	99,3	98,7	Oui	< 5	<0,001
	2018/01585	86	98,4	98,9	Oui	< 5	<0,001
2 (05/2019)	2019/00897	86	98,6	97,8	Oui	< 5	<0,001
	2019/00679	87	99,0	99,2	Oui	< 5	<0,001
	2019/00925	84	98,8	98,7	Oui	< 5	<0,001
	Moyenne	85,06	99,02	98,73			
	Ecart type	2,23	0,57	0,50			

Tableau 14 : Résultats des RScd et des contrôles des produits finis des 2 séries de 3 synthèses de validation du procédé de préparation automatisé pour routine clinique.

Tous les produits finis issus des synthèses de validation ont été des suspensions blanches se séparant au repos dont le pH était de 4,4. **Tous les contrôles des suspensions de [⁶⁸Ga]Ga-MAA ont été conformes aux spécifications.**

Les RScd ont tous été supérieurs à 80% et aucune synthèse des 2 séries n'a échoué.

Le procédé de synthèse des [⁶⁸Ga]Ga-MAA entièrement automatisé et optimisé pour la routine clinique ont donc pu être validé.

IV. Discussion - conclusion

Le but de cette partie expérimentale était de mettre au point et de valider un procédé de synthèse entièrement automatisé pour produire en routine clinique, une suspension de [⁶⁸Ga]Ga-MAA conformément aux Bonnes Pratiques de Préparation et en accord avec la Pharmacopée Européenne, pour la réalisation de TEP de perfusion pulmonaire.

En effet, la volonté d'obtenir un procédé automatisé, simple et facile à mettre en œuvre dans une radiopharmacie a guidé le développement de la synthèse des [⁶⁸Ga]Ga-MAA.

Dans un premier temps, nous avons choisi d'utiliser une solution d'acétate de sodium pour atteindre le pH cible du milieu réactionnel pour des raisons pratiques. Une solution d'acétate de sodium est relativement simple à préparer, ce qui, en plus du gain de temps assurait une bonne reproductibilité d'une solution à l'autre.

Le second élément qui nous paraissait indispensable pour la simplification du procédé était de pouvoir utiliser une trousse commerciale de MAA initialement prévue pour le marquage au ^{99m}Tc sans lavage préalable des MAA. Comme nous l'avons déjà évoqué, peu de travaux publiés utilisaient les MAA sans pré-lavage pour enlever le SnCl₂ et l'albumine. Sans détailler les résultats, Mueller et son équipe étaient les seuls à mentionner que la présence ou non du SnCl₂ dans la trousse de MAA ne modifiait pas les rendements de marquage (47). D'après leurs résultats, Jain et al. qui ont préparé leurs propres MAA

avec et sans SnCl_2 émettaient l'hypothèse que le SnCl_2 participait à la réaction de marquage des MAA par le ^{68}Ga (26). Nous n'avons pas testé notre procédé de marquage en utilisant des MAA exempts de SnCl_2 , cependant, les rendements de synthèse obtenus en utilisant une trousse commerciale non modifiée étaient très satisfaisants (RScd moyen: $85,07 \pm 2,23\%$).

Le troisième élément de simplification a consisté à ne pas réaliser de pré-purification de l'éluat de ^{68}Ga avant son utilisation pour le marquage. Il a été montré que l'éluat de ^{68}Ga pouvait contenir des impuretés métalliques telles que le Ti^{4+} , Zn^{2+} , Fe^{2+} ou le ^{68}Ge risquant de diminuer les rendements de marquage (51). Un grand nombre d'auteurs préparant des ^{68}Ga -MAA procédaient à une pré-purification de l'éluat pour s'affranchir de ce risque (1, 26, 35, 43, 47-50). Cependant, certains ont montré de bons rendements de marquage sans pré-purification de l'éluat (26, 35, 43). Par ailleurs, le générateur de $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ que nous avons utilisé disposait d'une Autorisation de Mise sur le Marché (AMM) garantissant l'obtention d'une solution de chlorure de gallium (^{68}Ga) pour le radiomarquage conforme aux spécifications de la Pharmacopée Européenne. De plus, le générateur était systématiquement élué une première fois dans les 24h précédant le marquage afin d'éliminer les éventuelles impuretés métalliques qui s'étaient accumulées. Ainsi, comme l'ont montrés nos RScd ainsi que les résultats des contrôles qualité dont le pourcentage de ^{68}Ge , la pré-purification ne semblait pas être une étape indispensable.

Le quatrième élément de simplification qui était également l'élément innovant de notre procédé était la purification automatisée des ^{68}Ga -MAA. En effet, comme mentionné précédemment, aucun procédé automatisé de préparation des suspensions de ^{68}Ga -MAA ne comportait d'étape de purification automatisée. Cette étape nous semblait importante pour plusieurs raisons. La première étant de séparer les ^{68}Ga -MAA du milieu réactionnel qui contenait entre autre de l'acide chlorhydrique apporté par l'éluat de ^{68}Ga et du SnCl_2 . La seconde raison était de pouvoir nous affranchir des petites particules de taille inférieure à $10\ \mu\text{m}$ capables de se localiser au niveau du système réticulo-endothélial ou au niveau osseux après injection (34). La purification automatisée sur

filtre a été l'étape qui a nécessité le plus de mise au point. L'utilisation de la gravité et la minimisation des volumes d'air passant sur le filtre en étaient les points clés. Cependant, les objectifs visés n'ont pas tout à fait été atteints puisque le produit fini a conservé une petite quantité de SnCl₂ qui a toutefois été divisée par 10 par rapport à la teneur initiale de la trousse. Si nous nous référons au travail de Jain et al., nous pouvons supposer que le Sn toujours présent dans le produit fini participait au marquage des MAA par le ⁶⁸Ga (26). Notons que la teneur initiale de SnCl₂ était conforme aux valeurs données par la Pharmacopée Européenne pour permettre une administration à l'homme. La persistance de SnCl₂ dans le produit fini ne contre indiquait donc pas l'administration à l'homme. L'étape de purification automatisée des [⁶⁸Ga]Ga-MAA était efficace (% de décrochage > 70%, RPNF moyenne : 98,73 ± 0,50%) et avait l'avantage de permettre un gain de temps et de limiter l'irradiation du personnel par rapport à la centrifugation qui était le procédé le plus décrit dans la littérature (26, 34, 35, 42-44, 46, 48, 49).

Pour aller au bout de l'optimisation de notre procédé de synthèse, sur la base du travail de Hofman et al., le temps de chauffage du milieu réactionnel a été réduit à 5 min sans pour autant modifier ni les rendements de synthèse (RSncd : 93,5%) ni la qualité du produit fini (PRC : 100%, RPNF : 99,7%).

Les contrôles qualités nécessaires à la validation du procédé et au contrôle du produit fini en routine ont été développés et validés parallèlement au procédé de synthèse.

Finalement, ce premier travail a permis de mettre au point une synthèse fiable, reproductible et entièrement automatisée pour la production d'une suspension de [⁶⁸Ga]Ga-MAA conforme aux Bonnes Pratiques de Préparation et stable pendant au moins 3h. C'est un procédé simple, rapide (15 min de synthèse et 10 min de contrôles) et facile à mettre en œuvre, qui permet de réaliser à la fois la TEP de perfusion pulmonaire et la TEP de ventilation pulmonaire grâce à l'isolement de 2 mL d'éluat avant le début du marquage.

Ainsi, avec un générateur de 1850 MBq à calibration, l'activité du produit fini varie de 650 à 300 MBq/10 mL selon l'âge du générateur.

Par ailleurs, nous avons montré que l'intégrité des MAA était conservée durant le procédé de préparation ce qui était en faveur du maintien des propriétés pharmacologiques des MAA marqués au ^{68}Ga .

Une pondération est cependant à apporter en ce qui concerne la stabilité *in vitro* dans le sérum humain. En effet, le pourcentage de ^{68}Ga libre avoisine 30% dès 15 min après la mise en contact des [^{68}Ga]Ga-MAA avec le sérum humain. Cependant, ce résultat ne représente pas un problème pour la réalisation des TEP de perfusion pulmonaire pour lesquelles l'acquisition des images est effectuée immédiatement après l'administration du MRP et ne dure que quelques minutes.

Le procédé décrit et validé dans cette partie respecte en tout point les prérequis que nous nous étions fixés. Il est simple, rapide, fiable et reproductible, entièrement automatisé (de l'élution jusqu'à la purification du produit fini) et permet d'obtenir à la fois une suspension de [^{68}Ga]Ga-MAA conforme aux BPP et l'éluat de ^{68}Ga nécessaire à la préparation des ^{68}Ga -nanoparticules de carbone aérosolisées pour la TEP de ventilation pulmonaire (figure 15).

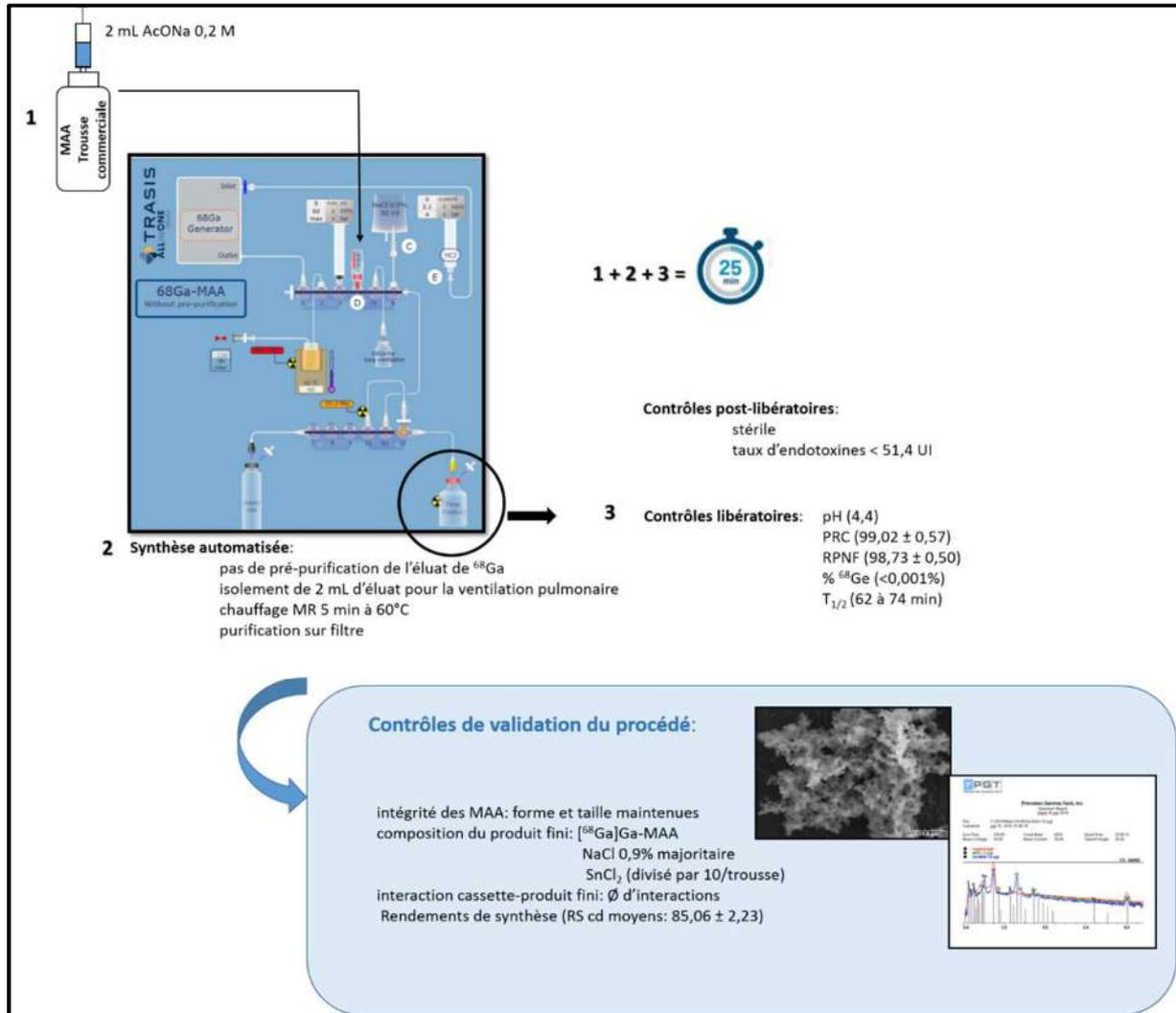


Figure 15 : Résumé du travail portant sur la mise au point du marquage automatisé des MAA au ^{68}Ga et des contrôles du produit fini

Par ailleurs, **il est innovant** pour plusieurs raisons :

Il est le seul procédé automatisé alliant l'utilisation d'une trousse commerciale de MAA non modifiée avant marquage reconstituée avec une solution d'acétate de sodium et l'utilisation d'un éluat de ^{68}Ga sans pré-purification.

Il est également le seul procédé à permettre une purification du produit fini de manière automatisée.

La figure 16 illustre la qualité des images obtenues après administration des [⁶⁸Ga]Ga-MAA.

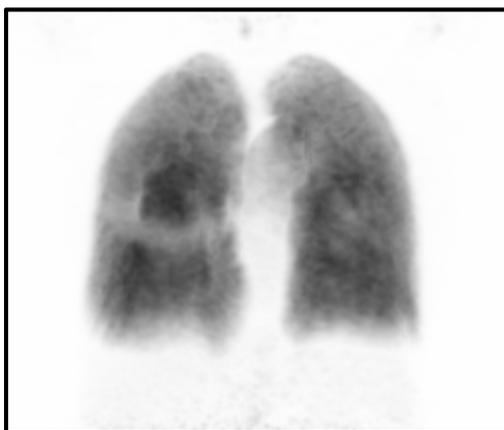


Figure 16 : TEP de perfusion pulmonaire réalisée après l'administration intraveineuse des 50 MBq de [⁶⁸Ga]Ga-MAA préparés d'après le procédé mis au point au CHRU de Brest.

Enfin, ce travail nous a permis de soumettre à l'ANSM, trois DME dans le cadre des essais cliniques :

- ✓ PETEP (NCT04179539) pour lequel 79/100 patients ont déjà été inclus (soit 79 TEP/TDM de ventilation et de perfusion réalisés à ce jour).
- ✓ PEGASUS (NCT04942275) pour lequel les inclusions sont terminées (60 patients inclus, 130 TEP/TDM de perfusion réalisés à ce jour).
- ✓ EOLE (NCT05103670) pour lequel le premier patient a été récemment inclus.

Par ailleurs, il a été valorisé par :

- ✓ Une publication dans la revue *Frontiers in Nuclear Medicine* (annexe 1):

Blanc-Béguin, F., Masset, J., Robin, P., Tripier, R., Hennebicq, H., Guilloux, V., Vriamont, C., Wargnier, C., Cogulet, V., Eu, P., Salaün, P.Y., Le Roux, P.Y. Fully automated ⁶⁸Ga-labeling and purification of macroaggregated albumin particles for lung perfusion PET imaging. *Frontiers in Nuclear Medicine*. 2021 : 1-10.

- ✓ Une procédure de préservation des résultats sous forme d'un brevet n° PCT/EP2022/051434

Ce chapitre a également contribué à la rédaction d'une revue de la littérature dans la revue *Pharmaceuticals* (annexe 4) :

Blanc-Béguin, F., Hennebicq, S., Robin, P., Tripier, R., Salaun, P. Y., Le Roux, P. Y. Radiopharmaceutical Labelling for Lung Ventilation/Perfusion PET/CT Imaging: A Review of Production and Optimization Processes for Clinical Use. *Pharmaceuticals*. 2022. 15(5): 518

L'ensemble de ce travail m'a donné l'opportunité de participer à la rédaction d'un guide pour la rédaction de protocoles pour la scintigraphie pulmonaire:

Le Roux, P. Y., Blanc-Béguin, F., Bonnefoy, P. B., Bourhis, D., Camilleri, S., Moreau-Triby, C., Pinaquy, J. B., Salaün, P. Y. Guide pour la rédaction de protocoles pour la scintigraphie pulmonaire. Médecine Nucléaire. 2021. 45 : 85

Chapitre II :

**CARACTERISATION DES ^{68}Ga -NANOPARTICULES DE
CARBONE AEROSOLISEES ET COMPARAISON AUX
 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -NANOPARTICULES DE CARBONE AEROSOLISEES**

I. Introduction

L'objectif de la 2^{ème} partie de ce travail a consisté à mettre au point la production des ⁶⁸Ga-nanoparticules de carbone aérosolisées et de valider le procédé de préparation afin de permettre la réalisation d'images de ventilation pulmonaire en TEP.

D'un point de vue organisationnel, l'isolement de 2 mL d'éluat de ⁶⁸Ga avant le marquage des MAA rendait possible la réalisation de cette phase de l'examen immédiatement avant les images de perfusion.

D'un point de vue technique, la production des ⁶⁸Ga-nanoparticules de carbone aérosolisées décrite à plusieurs reprises dans la littérature semblait relativement simple et semblable à celle des ^{99m}Tc-nanoparticules de carbone (Technegas®) (1, 46, 76, 77, 79). Cependant, la composition de l'éluat utilisé pour la production différait puisque le ^{99m}Tc était obtenu dans du NaCl 0,9% à un pH de 5 et le ⁶⁸Ga dans de l'HCl 0,1N à un pH de 1.

Plusieurs études chez l'homme et l'animal ont montré une distribution pulmonaire des nanoparticules de carbone marquées au ⁶⁸Ga proche de celle du Technegas® (1, 46, 76, 77). Cependant, contrairement au Technegas® pour lequel il existe quelques publications traitant des propriétés physiques des nanoparticules marquées au ^{99m}Tc, aucune n'était disponible concernant les propriétés des nanoparticules de carbone marquées au ⁶⁸Ga. Or plusieurs auteurs ont montré que la présence de NaCl dans l'éluat de ^{99m}Tc entraînait la formation de cristaux lors de la production du Technegas® favorisant ainsi l'agrégation des nanoparticules et l'augmentation de leur taille (57-59, 63). La nature de l'éluat pouvait donc influencer les propriétés physiques des nanoparticules de carbone. La composition des éluats de ^{99m}Tc et de ⁶⁸Ga et la chimie des marqueurs (^{99m}Tc et ⁶⁸Ga) étant différentes, il était important de vérifier les propriétés physiques des ⁶⁸Ga-nanoparticules de carbone aérosolisées.

De plus, ces données ainsi que la composition du produit fini étaient nécessaires pour la constitution du DME qui devait être déposé à l'ANSM dans le cadre de l'essai clinique PETEP (NCT04179539).

Le travail exposé dans ce second chapitre expérimental reprend l'étude des propriétés physiques des ^{99m}Ga -nanoparticules de carbone aérosolisées et celles du produit fini.

Les études décrites ci-dessous ont majoritairement été réalisées à la fois sur le technegas et sur les nanoparticules marquées au ^{68}Ga pour permettre :

- La comparaison des 2 types de particules qui devaient avoir les mêmes propriétés physiques pour assurer les mêmes propriétés pharmacologiques.
- La confrontation des résultats obtenus avec le Technegas® aux données de la littérature pour valider nos méthodes analytiques.

Le ^{68}Ga se désintégrant en zinc-68 (^{68}Zn), les analyses de forme, taille et structure ont également été menées sur des nanoparticules préparées avec du gallium stable (^{69}Ga) afin de vérifier que les propriétés physiques des particules n'étaient pas modifiées lors de la désintégration du ^{68}Ga . Par ailleurs, des nanoparticules produites avec du NaCl 0,9% ou de l'HCl 0,1N uniquement ont également été étudiées afin de considérer l'effet de l'introduction du métal (^{99m}Tc ou ^{68}Ga) sur les propriétés physiques des nanoparticules de carbone.

II. Matériels et méthodes

A. Production des nanoparticules de carbone aérosolisées

Les 2 types de nanoparticules ont été préparés en utilisant un générateur de Technegas® PLUS fournis par Cyclomedica Australia Pty Ltd. (Australie) et distribué par Cis Bio international (France) dans les conditions décrites par le fournisseur pour un usage en routine clinique.

Pour les nanoparticules marquées au ^{99m}Tc , l'éluat a été obtenu par élution avec environ 5 mL de NaCl 0,9% d'un générateur de $^{99}\text{Mo}/^{99m}\text{Tc}$, TEK CIS® (Cis Bio international, France).

Pour les nanoparticules marquées au ^{68}Ga , l'éluat a été obtenu par élution avec 5 mL de HCl 0,1N d'un générateur de $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ GalliaPharm® fournis par E&Z RadioPharma GmbH (Allemagne) et distribué par Cis Bio International (France).

Pour la production des nanoparticules de carbone marquées au ^{69}Ga , une solution de chlorure de ^{69}Ga à $4,54 \times 10^{-9}\text{M}$ a été préparée à partir de chlorure de gallium III, ultra sec (Alfa Aesar™, Fisherscientific Ilkirch, France) dissous dans de l'HCl 0,1N. La molarité de la solution de ^{69}Ga a été calculée afin d'obtenir la même concentration en Ga qu'un éluat de ^{68}Ga de 1850 MBq pour 5 mL soit environ 0,02 nmol/5mL.

La préparation des différents types de nanoparticules de carbone a été réalisée en introduisant 0,17 à 0,34 mL de l'une des solutions suivantes dans le creuset de graphite Pulmotec® (Cis Bio International, France) : NaCl 0,9%, HCl 0,1N, chlorure de ^{69}Ga , éluat de ^{68}Ga , éluat de $^{99\text{m}}\text{Tc}$.

Le creuset de graphite a été préalablement humidifié avec de l'éthanol absolu et placé entre les contacts du générateur de Technegas® PLUS, lequel était ensuite utilisé selon les recommandations du fournisseur pour un usage en routine clinique (photo 1). Le creuset de graphite était donc chauffé à 70°C pendant 6 min pour la phase d'évaporation. Durant cette phase, la chambre du générateur de Technegas™PLUS était remplie d'argon jusqu'à disparition complète de l'oxygène présent initialement. Le creuset de graphite était ensuite chauffé 15 s à $2250 \pm 50^\circ\text{C}$ pour la phase de combustion durant laquelle les nanoparticules de carbone aérosolisées étaient formées.



Photo 1 : Creuset de graphite placé entre les contacts du générateur Technegas™ PLUS.

B. Prélèvement des échantillons

Quelle que soit la nature du prélèvement, la première étape était la production de nanoparticules de carbone d'après le procédé décrit ci-dessus.

Une fois la production réalisée, les nanoparticules de carbone pouvaient être prélevées sur filtre ou par infusion.

1. Prélèvement sur filtre

Pour ce type de prélèvement, un kit d'administration du technegas au patient était branché sur le générateur de technegas™PLUS par l'une des extrémités. Comme le montre la photo 2, l'autre extrémité du kit d'administration était connectée à un masque fixé sur le support de filtre d'un préleveur d'aérosol PA 2000 (Algade®, Bessines-sur- Gartempe, France). Le préleveur d'air était mis en route de manière concomitante avec la libération des nanoparticules aérosolisées. Environ 0,1m³ d'aérosol était aspiré sur un filtre en cellulose et fibre de verre pendant les 10 min de validité de l'aérosol.



Photo 2 : Prélèvement sur filtre des nanoparticules de carbone aérosolisées à l'aide du préleveur d'aérosol PA 2000.

Pour les prélèvements destinés à la microscopie électronique à transmission (MET), une grille de MET était déposée sur le filtre en cellulose et fibres de verre (photo 3A). Pour les prélèvements destinés à étudier la répartition de la radioactivité en fonction de la taille des nanoparticules, un filtre membrane

en polycarbonate ayant des pores de 80 nm et un diamètre de 25 mm était placé sur le filtre en cellulose et fibres de verre (photo 3B).

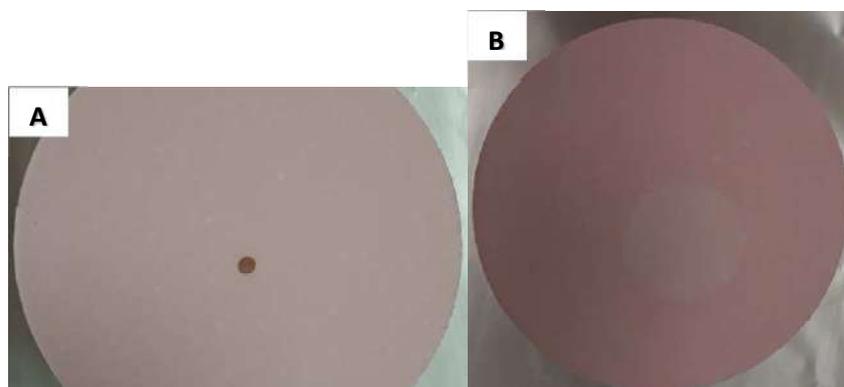


Photo 3 : Filtre de prélèvement des nanoparticules aérosolisées en cellulose et fibre de verre sur le lequel est déposé la grille de MET (A) ou les filtres membrane en polycarbonate (B).

2. Prélèvement par infusion

Les prélèvements par infusion ont été réalisés pour l'analyse de structure des nanoparticules de carbone. Pour cela, un kit d'administration de l'aérosol a été branché au générateur de Technegas™ PLUS par l'une des extrémités. L'autre extrémité a été adaptée sur un kit de tubulures placé dans une pompe Agilia®VP (Fresenius Kabi, Sèvres, France). L'extrémité des tubulures non reliée au kit d'administration était introduite dans un flacon contenant 1 mL de méthanol de qualité LC/MS de manière à ce que les nanoparticules de carbone infusent dans le méthanol (photo 4). Le prélèvement était effectué pendant les 10 min de validité de l'aérosol. A la fin du prélèvement, la radioactivité du flacon était mesurée afin de vérifier que ce dernier contenait bien des nanoparticules puis le méthanol était évaporé par ouverture du flacon sous une hotte chimique en marche.



Photo 4 : Montage pour le prélèvement des nanoparticules de carbone par infusion dans le méthanol.

C. Analyse des prélèvements

1. Microscopie électronique à balayage (MEB) et analyse EDX

L'analyse de la composition de l'aérosol de nanoparticules de carbone marquées a été réalisée, par microscopie électronique à balayage (microscope électronique à balayage HITACHI S-3200N (HITACHI, Tokyo, Japon) couplée à une analyse par Energie Dispersive de rayons X (EDX) avec le concours du service général des plateformes technologiques de l'Université de Bretagne Occidentale UBO (SGPLAT-Université de Bretagne Occidentale). L'analyse a été effectuée sur un morceau du filtre de prélèvement en cellulose et fibre de verre déposé sur un support adapté. Les échantillons analysés étaient les suivants : le filtre en cellulose et fibres de verre imprégné de ^{99m}Tc -nanoparticules de carbone (^{99m}Tc -nanoparticules de carbone décruées), le filtre en cellulose et fibres de verre imprégné de ^{68}Zn -nanoparticules de carbone (^{68}Ga -nanoparticules de carbone décruées), le filtre en cellulose et fibres de verre seul.

2. Microscopie électronique en transmission (MET)

La taille et la forme des nanoparticules de carbone marquées ont été analysées par microscopie électronique en transmission avec un microscope JEOL JEM 1400 équipé d'un canon à filament de tungstène fonctionnant à un voltage d'accélération de 100kV. Le diamètre des nanoparticules a été mesuré à partir des images acquises par MET à l'aide du programme DigitalMicrograph (Gatan Inc, Pleasanton, USA). Les mesures ont été réalisées sur 4 échantillons de 100 nanoparticules de carbone de chaque type. Les différents types de nanoparticules explorées étaient : les nanoparticules de carbone réalisées à partir de NaCl 0,9%, celles réalisées à partir d'un éluat de ^{99m}Tc , celles réalisées à partir de HCl 0,1N, celles réalisées à partir de la solution de $^{69}\text{GaCl}_3$ et celles réalisées à partir d'un éluat de ^{68}Ga .

Les résultats ont été exprimés en diamètre moyen \pm écart type.

3. Spectrométrie de masse MALDI-TOF (Matrix Assisted Laser Desorption Ionisation/Time OF Flight)

Les études de spectrométrie de masse MALDI-TOF ont été menées en collaboration avec le service général des plateformes technologiques de l'UBO (SGPLAT-Université de Bretagne Occidentale).

Les acquisitions par spectrométrie de masse MALDI-TOF ont été réalisées comme suit :

Le HCCA (alpha cyano 4 hydroxycinnamic acid) a été utilisé comme matrice (2mg /mL dans 70% (v/v) solution aqueuse et acétonitrile acidifiée avec 0,1% de TFA).

La matrice a été déposée sur la cible MTP384 (Bruker Daltonics) par pipettage de 1 μL de la solution, séchée sous air l'ambient, et additionnée de 5 μL de l'échantillon.

Les spectres de MALDI TOF ont été enregistrés sur un spectromètre Bruker Autoflex III SmartBeam équipé d'un laser sous azote, à 337nm, et en opérant en mode positif, avec deux puissances de laser à 56 et 70%.

Le système a été calibré par le standard Bruker BSA tryptic digest of Bovin Albumin.

Les spectres ont été enregistrés entre 300 et 3400 Da. Les échantillons analysés étaient ceux obtenus par infusion. Les nanoparticules de carbone étudiées étaient celles marquées au ^{99m}Tc et au ^{68}Ga après décroissance à raison de 3 échantillons de chaque type de nanoparticules.

4. Spectrométrie gamma : répartition de la radioactivité dans les nanoparticules

Cette étude a été menée à partir du filtre membrane en polycarbonate et de la surface du filtre en cellulose et fibres de verre servant de support sur lesquels avaient été déposées les nanoparticules de carbone marquées au ^{68}Ga ou au ^{99m}Tc . La quantité de radioactivité du filtre membrane et de la partie du filtre en cellulose et fibres de verre sur laquelle reposait le filtre membrane a été comptée en utilisant une sonde NaI(Tl) 3 pouces puits (Canberra, France).

Les nanoparticules de carbone ont ensuite été classées en 2 catégories de tailles : les nanoparticules de diamètre ≥ 80 nm restées sur le filtre membrane et celles dont le diamètre était < 80 nm qui étaient déposées sur le support (=filtre en cellulose et fibres de verre).

Le pourcentage de radioactivité retrouvé dans les nanoparticules de diamètre ≥ 80 nm a été calculé de la manière suivante : $(\text{radioactivité du filtre membrane} / \text{radioactivité totale}) \times 100$

La radioactivité totale était égale à : radioactivité du filtre membrane + radioactivité de la partie du filtre en cellulose et fibres de verre sur laquelle le filtre membrane était déposé.

Le pourcentage de radioactivité retrouvé dans les nanoparticules de diamètre < 80 nm était calculé avec la formule suivante : $100 - (\% \text{ de radioactivité dans les nanoparticules de diamètre } \geq 80 \text{ nm})$.

Ces mesures ont été réalisées sur 3 prélèvements de chaque type de nanoparticules (=marquées au ^{99m}Tc et marquées au ^{68}Ga).

III. Résultats

A. Propriétés physiques des nanoparticules de carbone marquées

1. Taille et forme des nanoparticules de carbone.

La MET a été utilisée pour explorer la taille et la forme des nanoparticules marquées.

Les images réalisées par MET ont montré que quelle que soit la solution introduite dans le creuset de graphite pour produire les nanoparticules (NaCl 0,9%, HCl 0,1N, $^{69}\text{GaCl}_3$, éluat de $^{99\text{m}}\text{Tc}$, éluat de ^{68}Ga), l'aérosol obtenu était composé de particules primaires ayant une forme à tendance hexagonale agglomérées en agrégats secondaires mesurant plusieurs centaines de nm (figure 1). Ce phénomène d'agrégation semblait être favorisé par la présence de cristaux à la fois dans l'aérosol contenant les nanoparticules de carbone marquées au $^{99\text{m}}\text{Tc}$ mais également, dans une moindre mesure, dans celui contenant les nanoparticules de carbone marquées au ^{68}Ga (figure 2).

Par ailleurs, l'utilisation de la MET a permis de mettre en évidence que les nanoparticules primaires avaient une structure en couches parallèles les unes aux autres qu'elles soient préparées avec un éluat de $^{99\text{m}}\text{Tc}$, un éluat de ^{68}Ga ou une solution de $^{69}\text{GaCl}_3$ (figure 1).

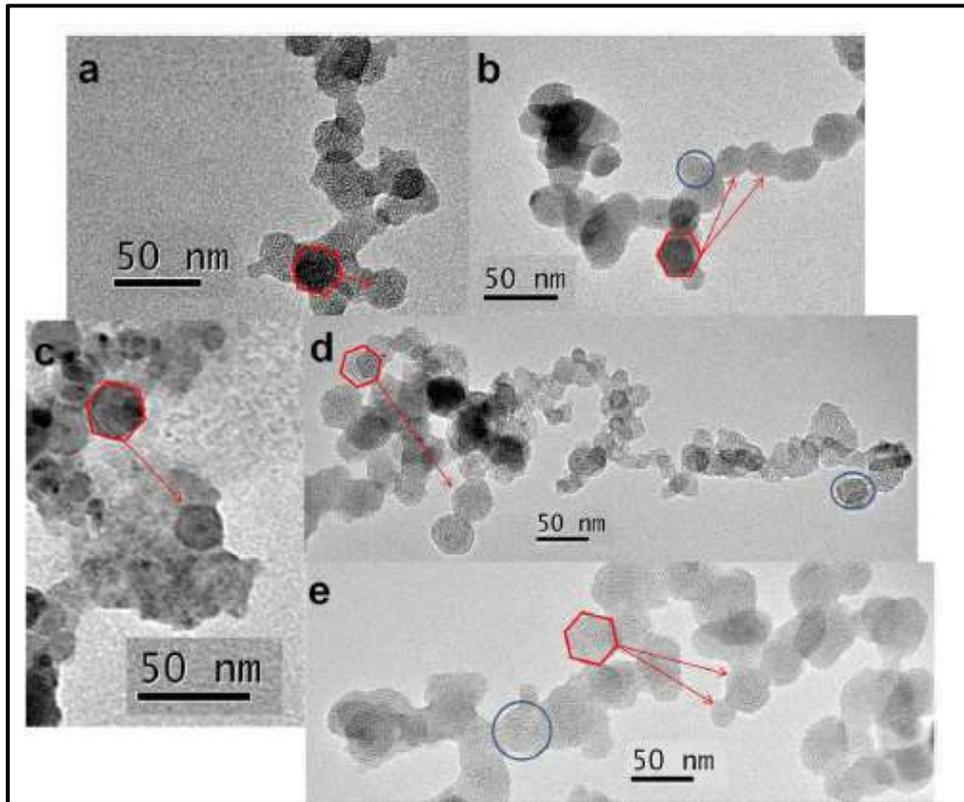


Figure 1 : Images obtenues par MET de nanoparticules de carbone primaires préparées à partir de : NaCl 0,9% seul (a), d'un éluat de ^{99m}Tc (b), de HCl 0,1N seul (c), d'une solution de $^{69}\text{GaCl}_3$ (d) et d'une élution de ^{68}Ga (e). Les nanoparticules de carbones marquées au ^{99m}Tc et ^{68}Ga ont été étudiées après décroissance. Les particules observées étaient donc des nanoparticules de carbone marquées au ^{99}Tc et ^{68}Zn .

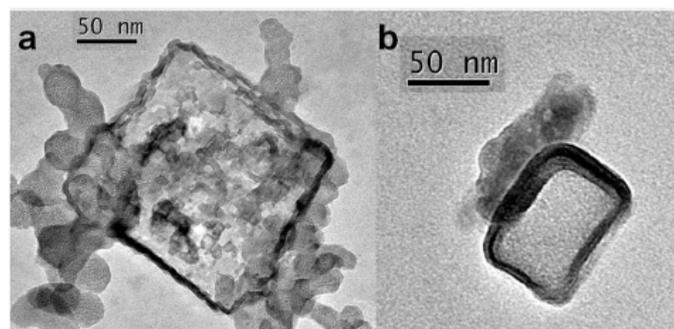


Figure 2 : Agglomérat de ^{99m}Tc -nanoparticules de carbone après décroissance (a) et de ^{68}Ga -nanoparticules de carbone après décroissance (b) sur un cristal.

D'après les résultats présentés dans le tableau 1, le diamètre des nanoparticules primaires variait entre $19,8 \pm 11,7$ nm et $23,1 \pm 16,8$ nm quelle que soit la solution introduite dans le creuset de graphite.

	Samples	Mean diameter (nm)	Standard deviation
0.9 % NaCl	1	22.9	5.5
	2	21.3	5.3
	3	23.8	6.2
	4	20.6	7.2
	All samples	22.1	6.2
^{99m} Tc-labelled carbon nanoparticles	1	23.1	6.2
	2	19.2	6.0
	3	23.4	6.1
	4	17.6	8.5
	All samples	20.9	7.2
0.1 N HCl	1	27.9	18.8
	2	17.2	10.6
	3	25	19.6
	4	22.4	9.5
	All samples	23.1	16.8
Stable gallium carbon nanoparticles	1	23.6	9.2
	2	21	9.1
	3	24.4	10.3
	4	20.9	10.9
	All samples	22.4	10.0
⁶⁸ Zn-labelled carbon nanoparticles	1	20.7	6.7
	2	20.2	13.7
	3	21.6	13.9
	4	16.6	10.6
	All samples	19.8	11.7

Tableau 1 : Diamètres moyens \pm écarts types des nanoparticules de carbone primaires mesurés à partir des images de MET avec le programme DigitalMicrograph.

2. Structure

L'utilisation de la MET a également permis de mettre en évidence que les nanoparticules primaires avaient une structure en couches parallèles les unes aux autres qu'elles soient préparées avec un éluat de ^{99m}Tc, un éluat de ⁶⁸Ga ou une solution de ⁶⁹GaCl₃ (figure 1).

Par ailleurs, l'analyse par spectrométrie de masse MALDI-TOF sur des échantillons de ^{99m}Tc-nanoparticules de carbone et ⁶⁸Ga-nanoparticules de carbone après décroissance a montré la présence de particules de masse comprise entre 385,669 et 883,832 Da pour les nanoparticules marquées au ^{99m}Tc (figure 3) et entre 385,616 et 814,853 Da pour celles préparées avec du ⁶⁸Ga à la fois sur les spectres acquis avec un laser à 56% (figure 4) et sur ceux acquis avec un laser à 70% (figure 5). Quel que soit l'échantillon testé, aucune particule ayant une masse comprise entre 900 et 3400 Da n'était détectable.

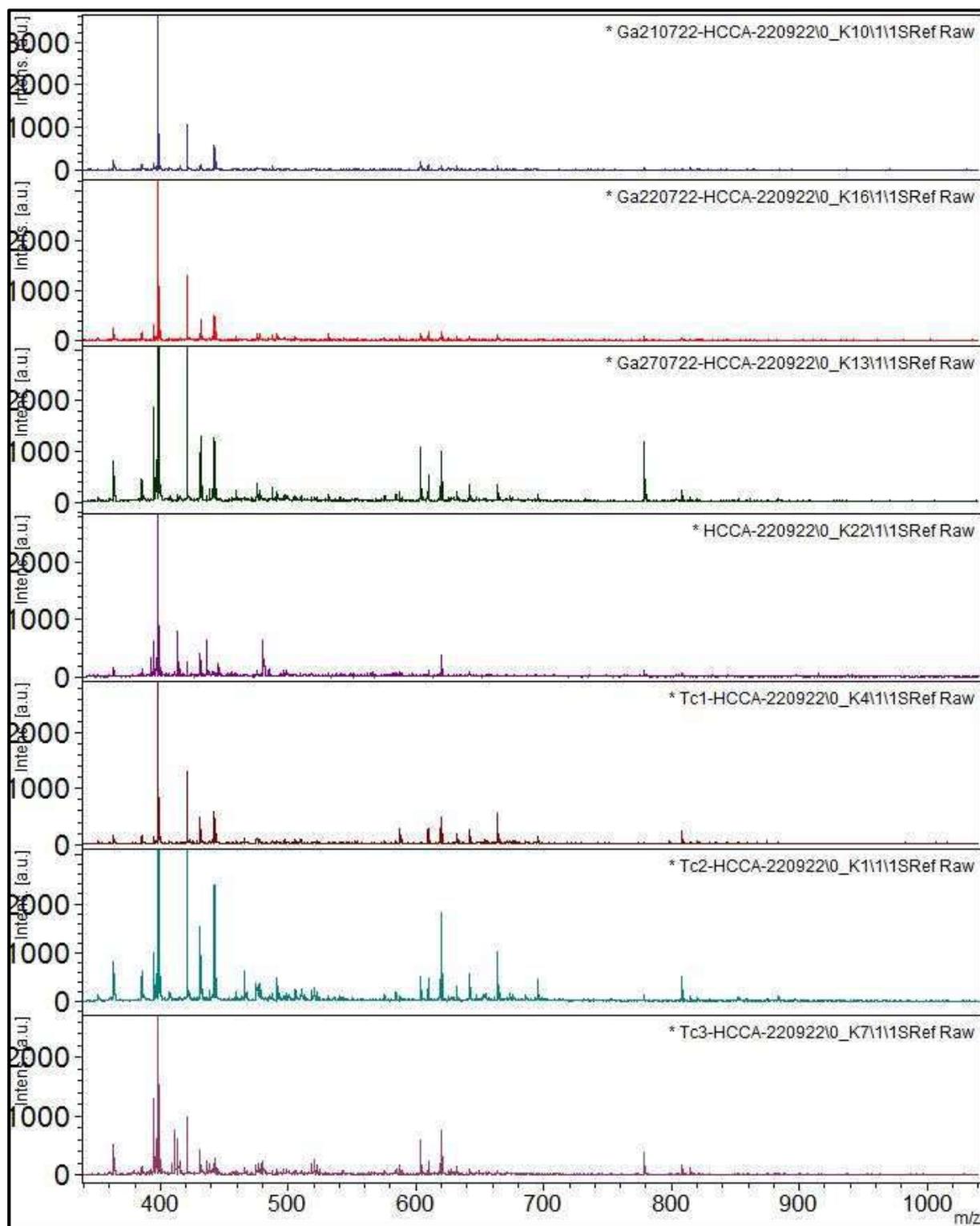


Figure 4 : Spectres acquis en MALDI-TOF de la matrice HCCA, des 3 échantillons de ^{99}Tc -nanoparticules de carbone et des 3 échantillons de ^{68}Zn -nanoparticules de carbone avec une puissance de laser à 56%.

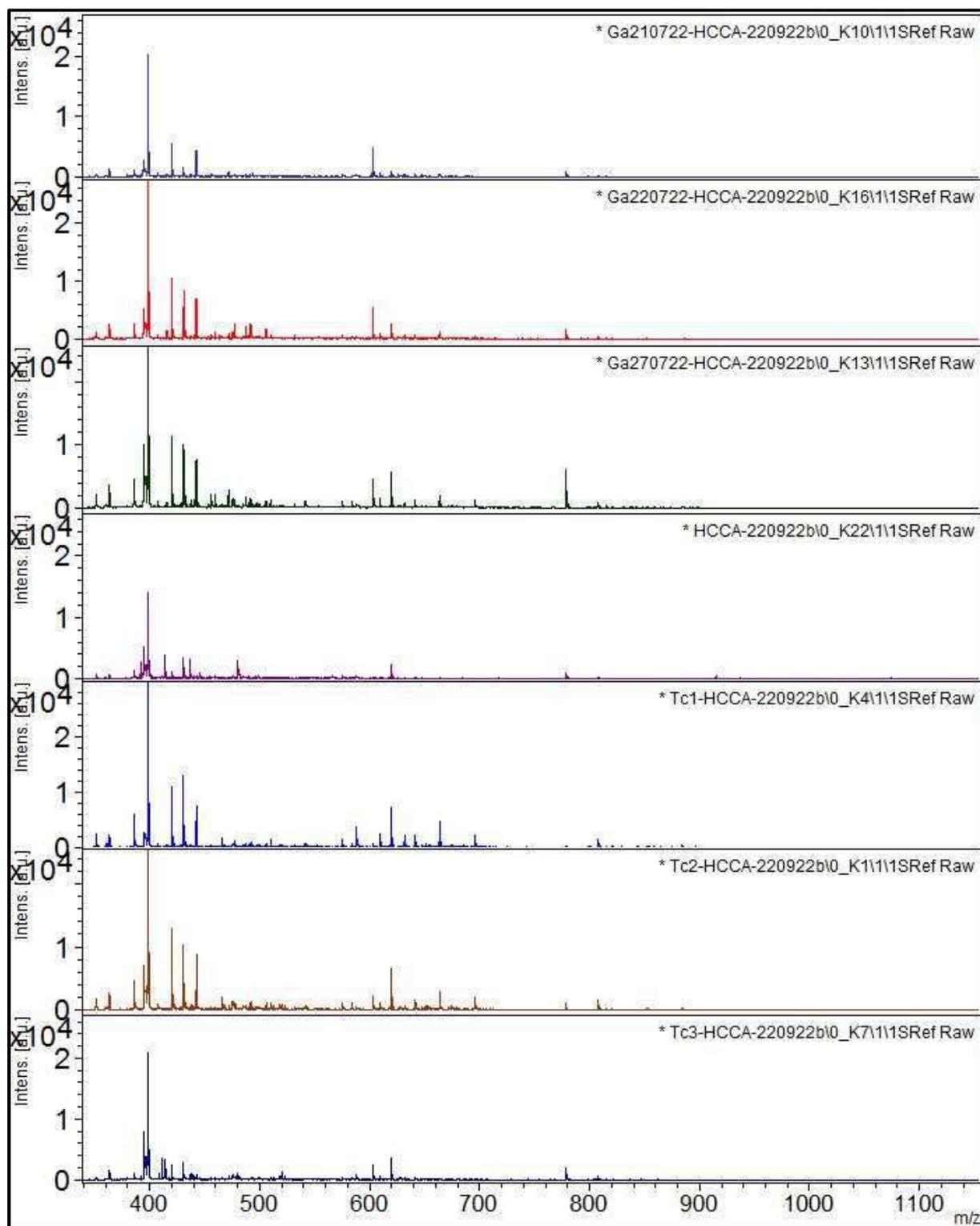


Figure 5 : Spectres acquis en MALDI-TOF de la matrice HCCA, des 3 échantillons de ⁹⁹Tc-nanoparticules de carbone et des 3 échantillons de ⁶⁸Zn-nanoparticules de carbone avec une puissance de laser à 70%.

Une dernière information sur la structure des nanoparticules de carbone marquées au ^{68}Ga nous a été donnée par l'étude de la répartition de la radioactivité dans les nanoparticules. En effet, les résultats présentés dans le tableau 2 indiquent que le plus gros pourcentage de radioactivité des échantillons analysés semblait être présent dans les nanoparticules dont le diamètre est inférieur ou égal à 80 nm qu'elles soient marquées par du $^{99\text{m}}\text{Tc}$ ou du ^{68}Ga .

% de radioactivité dans les nanoparticules de diamètre ≤ 80 nm		
	$^{99\text{m}}\text{Tc}$ -nanoparticules de carbone	^{68}Ga -nanoparticules de carbone
	80,5	79,0
	91,0	99,0
	83,6	90,0
% moyen	85,0	89,3
Ecart type	5,4	10,0

Tableau 2 : Pourcentage de radioactivité dans les $^{99\text{m}}\text{Tc}$ et ^{68}Ga -nanoparticules de carbone de diamètre ≤ 80 nm.

B. Composition du produit fini

La composition des aérosols de ^{68}Ga et de $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -nanoparticules de carbone a été étudiée par MEB couplée à une analyse EDX.

Du fait de la limite de sensibilité de la technique utilisée, les spectres obtenus par MEB couplée à une analyse EDX n'ont pas permis de visualiser les atomes de ^{99}Tc ($^{99\text{m}}\text{Tc}$ décro) ou de ^{68}Zn (^{68}Ga décro) présents en quantités trop faibles dans les échantillons analysés (figure 6). Par ailleurs, les quantités d'aérosol étudiées étant différentes d'une analyse à l'autre, il n'a pas été possible de comparer quantitativement les pourcentages des différents atomes présents dans les échantillons.

Cependant, le spectre d'analyse de l'aérosol de ^{99}Tc -nanoparticules de carbone, a montré que l'échantillon analysé contenait 0,5% d'atomes de sodium (Na) et 0,24% d'atomes de chlore (Cl) (figure 6b). Ce résultat corroborait celui de l'analyse par MET qui avait mis en évidence la présence de cristaux

que nous avons supposés être des cristaux de Na du fait notamment de la composition de l'éluat de ^{99m}Tc utilisé pour la production des ^{99m}Tc -nanoparticules de carbone aérosolisées.

A l'inverse le peu de Cl et de Na mis en évidence dans l'échantillon d'aérosol de ^{68}Zn -nanoparticules de carbone semblait correspondre à celui présent dans le filtre en cellulose et fibres de verre sur lequel était déposé l'aérosol (figures 6a et c). Cette observation suggère que même si le Cl présent dans l'éluat de ^{68}Ga participait à la formation de cristaux lors de la préparation de l'aérosol, l'échantillon analysé n'en contenait probablement pas.

Par ailleurs, la teneur importante en carbone (C) et oxygène (O) du filtre support en cellulose et fibres de verre n'a pas permis de conclure sur la composition des différents aérosols en C et O.

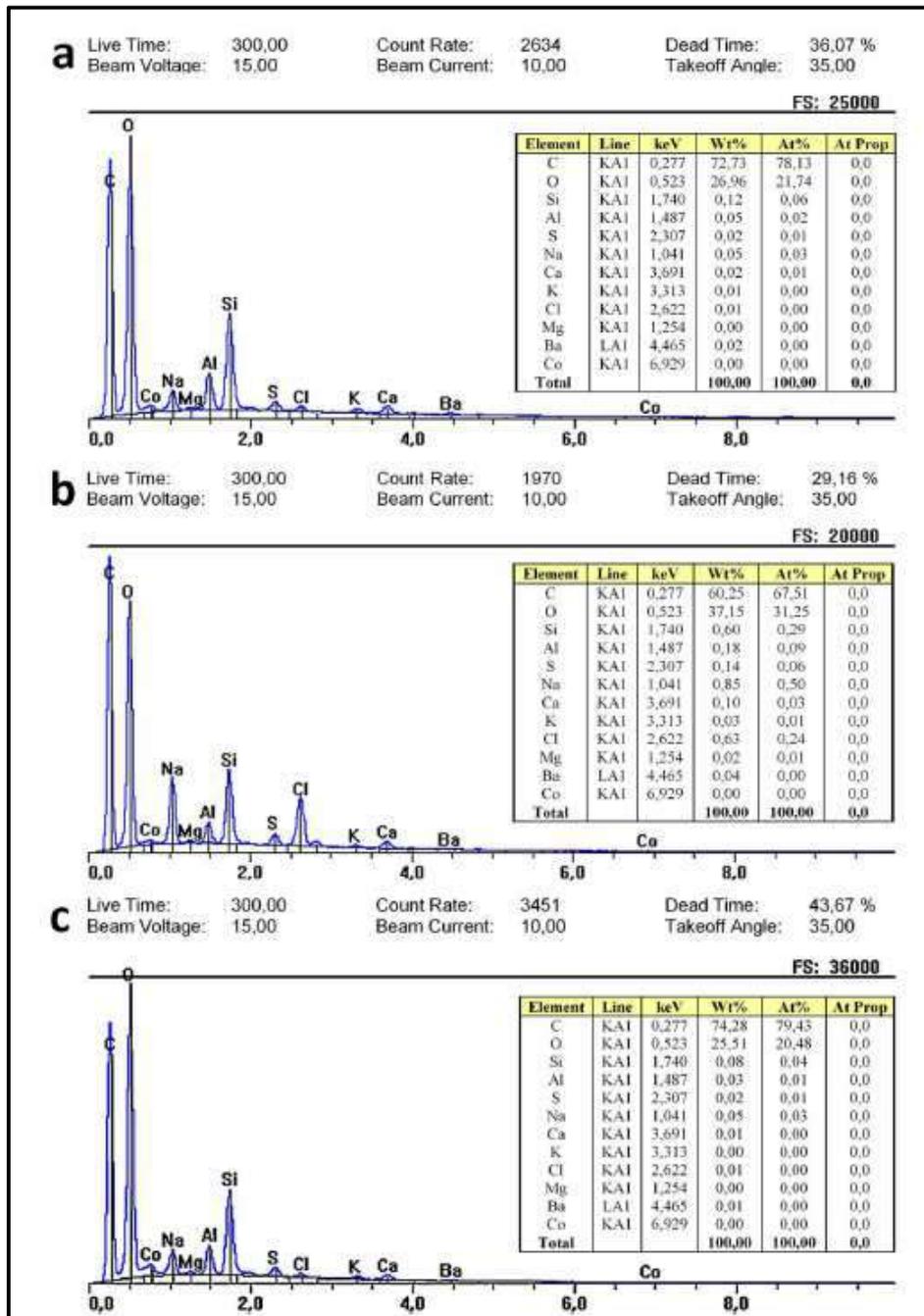


Figure 6 : Spectres EDX du support de prélèvement (filtre en cellulose et fibres de verre) (a), de l'aérosol de ^{99m}Tc-nanoparticules de carbone après décroissance (b) et de l'aérosol de ⁶⁸Ga-nanoparticules de carbone après décroissance (c). Les tableaux donnent le pourcentage des atomes présents dans chaque échantillon analysé.

IV. Discussion

Ce travail qui a consisté à étudier les propriétés à la fois des ^{68}Ga et des $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -nanoparticules de carbone ainsi que la composition du technegas et de l'aérosol de ^{68}Ga -nanoparticules de carbone avait pour objectifs : (1) de valider les méthodes utilisées en comparant les résultats obtenus pour les $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -nanoparticules de carbone avec les données de la littérature, (2) de valider la pertinence de l'usage de ^{68}Ga -nanoparticules de carbone aérosolisées pour la réalisation de TEP de ventilation pulmonaire en comparant leurs propriétés à celles des $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -nanoparticules de carbone composant le technegas disposant déjà d'une AMM pour les scintigraphies pulmonaires de ventilation.

Les résultats obtenus au cours de ce travail ont montré que de manière similaire au technegas, l'aérosol de nanoparticules de carbone marquées au ^{68}Ga était composé de nanoparticules primaires de forme à tendance hexagonale d'environ 20 nm de diamètre regroupées en agrégats secondaires pouvant mesurer jusqu'à plusieurs centaines de nanomètres. Les structures des 2 types de nanoparticules montrant des couches très probablement de carbone, disposées parallèlement les unes aux autres étaient également identiques. Par ailleurs la radioactivité semblait répartie majoritairement dans les particules de diamètre inférieur ou égal à 80 nm dans les ^{68}Ga et les $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -nanoparticules de carbone.

Les propriétés physiques des nanoparticules et notamment leur taille et leur forme étaient des facteurs importants à prendre en compte pour anticiper leur distribution dans les voies aériennes et les alvéoles. En effet, parmi les 5 mécanismes pouvant intervenir dans cette distribution (l'impaction inerte, la sédimentation, la diffusion, l'interception et la précipitation électrostatique), l'impaction inerte, la diffusion et la sédimentation sont directement liées à la taille des nanoparticules (figure 7).

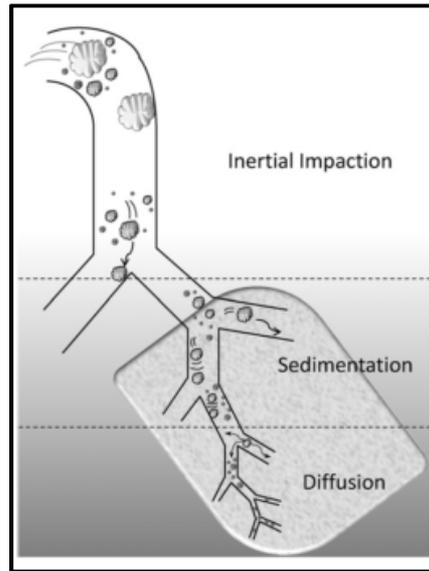


Figure 7 : Schéma représentant le dépôt des particules dans les poumons selon les mécanismes liés à la taille : impactation inerte, sédimentation, diffusion. D'après Carvalho et al. *International Journal of Pharmaceutics*. 2011.

D'après Carvalho et al., l'impactation inerte et la sédimentation seraient directement liées au carré du diamètre des particules alors que la diffusion serait elle, directement liée à l'inverse du diamètre des particules (88). Ainsi plus le diamètre des particules est petit et plus le phénomène de diffusion est important. Par ailleurs, les mêmes auteurs ont souligné l'importance de vérifier que l'incorporation d'un radionucléide dans les nanoparticules ne modifiait pas la taille de celles-ci afin de conserver leur répartition dans le système bronchique.

Du fait de la taille des nanoparticules qui le composent, le technegas a été considéré comme un pseudo-gaz ou une suspension ultrafine de particules de carbone à plusieurs reprises dans la littérature (58, 63, 64, 89). Le Dr William M. Burch, inventeur de la technologie «technegas », a défini un pseudo-gaz comme étant composé de particules submicroniques proches de la monodispersion diffusant sans agrégation, de la même manière qu'un gaz (89). La répartition pulmonaire d'un aérosol contenant des particules de la taille de celles du technegas devait donc se faire principalement au niveau des alvéoles et de manière moins importante dans les voies bronchiques.

Même si le procédé général de préparation des ^{68}Ga -nanoparticules de carbone était identique à celui des $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -nanoparticules de carbone, une différence non négligeable était liée à la nature de l'éluat qui était introduit dans le creuset de graphite. En effet, l'éluat de ^{68}Ga était composé d'acide chlorhydrique qui lui conférait un pH de 1 alors que l'éluat de $^{99\text{m}}\text{Tc}$ était composé de chlorure de sodium 0,9% avec un pH de 5. Par ailleurs les propriétés physico-chimiques (dont le diamètre notamment) du ^{68}Ga et du $^{99\text{m}}\text{Tc}$ diffèrent également. Il était donc indispensable de vérifier que les propriétés physiques des nanoparticules marquées au ^{68}Ga étaient bien conservées malgré la différence chimique de l'éluat utilisé pour leur production avant de valider la pertinence de l'usage d'un aérosol de ^{68}Ga -nanoparticules de carbone pour la TEP/TDM de ventilation pulmonaire.

Les images des différents types de nanoparticules de carbone réalisées par microscopie électronique en transmission ont montré que quelle que soit la solution introduite dans le creuset de graphite (NaCl 0,9%, HCl 0,1N, éluat de $^{99\text{m}}\text{Tc}$, éluat de ^{68}Ga ou solution de $^{69}\text{GaCl}_3$), les nanoparticules primaires obtenues avaient toutes des tailles moyennes similaires (de $19,8 \pm 11,7$ nm pour les ^{68}Zn -nanoparticules de carbone à $23,1 \pm 16,8$ nm pour les nanoparticules préparées avec l'HCl 0,1N seul), la même forme à tendance hexagonale et semblaient présenter la même structure lamellaire. Toutes étaient agglomérées en agrégats secondaires de taille dépassant 100 nm.

Les résultats obtenus dans cette étude avec les $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -nanoparticules de carbone étaient conformes aux données de la littérature. En effet, les différents travaux publiés ont présenté le technegas comme étant composé de nanoparticules primaires ayant des diamètres moyens variant entre 5 et 60 nm et formant des agrégats de taille plus importante (56-61, 63, 69, 70). Toujours d'après la littérature, ces nanoparticules primaires avaient une forme hexagonale et une structure montrant des couches de graphite orientées parallèlement les unes aux autres (56, 57, 59). **La concordance des résultats de ce travail avec les données de la littérature concernant le technegas nous a permis de valider la pertinence des techniques analytiques utilisées pour explorer les propriétés physiques des ^{68}Ga -nanoparticules de carbone.**

Par ailleurs, les nanoparticules obtenues avec le NaCl 0,9% seul et celles préparées avec l'HCl 0,1N seul présentaient les mêmes propriétés de taille, forme et structure indiquant ainsi que **le pH et la composition de l'éluat étaient certainement des facteurs peu impactant dans le procédé de préparation**. Il est également intéressant de souligner que les ^{68}Zn -nanoparticules de carbone (^{68}Ga -nanoparticules observées après décroissance) et les ^{69}Ga -nanoparticules de carbone présentaient elles aussi, des propriétés similaires de taille avec des diamètres moyens respectifs de $19,8 \pm 11,7$ nm et $22,4 \pm 10$ nm, de forme (hexagonale) et de structure (lamellaire), nous permettant de conclure que **les nanoparticules de carbone marquées au ^{68}Ga étaient stables dans le temps**.

D'autre part, certains auteurs ont montré que la radioactivité n'était pas répartie de manière uniforme dans les nanoparticules de carbone marquées au $^{99\text{m}}\text{Tc}$ (57-59). En effet, dans leur étude, Möller et al. ont montré que 2 % du $^{99\text{m}}\text{Tc}$ était contenu dans les nanoparticules de carbone de 40 nm et seulement 0,1% dans les nanoparticules de 100 nm (58). Nos résultats étaient en accord avec ces données puisque nous avons montré qu'en moyenne, dans nos conditions de mesure, $85 \pm 5,4\%$ du $^{99\text{m}}\text{Tc}$ était retrouvé dans les nanoparticules de diamètre inférieur ou égal à 80 nm. Par ailleurs, la radioactivité était répartie de la même manière dans les nanoparticules de carbone marquées au ^{68}Ga puisque $89,3 \pm 10\%$ du ^{68}Ga était contenu dans les nanoparticules de diamètre inférieur ou égal à 80 nm.

La présence de fullerènes en C60 et C70 dans l'aérosol de $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -nanoparticules de carbone a été évoquée par plusieurs auteurs (60, 61). Cependant, les spectres MALDI-TOF obtenus dans ce travail n'ont pas permis de confirmer la présence de tels fullerènes aussi bien dans les échantillons de nanoparticules marquées au $^{99\text{m}}\text{Tc}$ que dans ceux de nanoparticules marquées au ^{68}Ga . En considérant que les échantillons analysés contenaient à la fois des nanoparticules composées de carbone uniquement (=non marquées par le radionucléide à la préparation) et des nanoparticules composées de carbone et d'un atome du radionucléide décro (^{99}Tc ou ^{68}Zn), les spectres de MALDI-TOF laissaient envisager la présence :

- De particules composées de 32 à 74 atomes de carbone seuls ou de 24 à 65 atomes de carbone plus 1 atome de ^{99}Tc pour les échantillons de ^{99}Tc -nanoparticules de carbone.
- De particules composées de 32 à 68 atomes de carbone seuls ou de 26 à 62 atomes de carbone plus 1 atome de ^{68}Zn pour les échantillons de ^{99}Tc -nanoparticules de carbone.

Sachant que la taille d'un fullerène en C60 est de 0,7 nm, des particules comportant un nombre inférieur d'atomes de carbone auraient une taille inférieure (62). Or, les nanoparticules primaires observées au MET avaient une taille moyenne proche de 20 nm que ce soit pour les $^{99\text{m}}\text{Tc}$ ou les ^{68}Ga -nanoparticules de carbone. Il était donc peu probable que les signaux obtenus en MALDI-TOF correspondaient aux nanoparticules de carbone radiomarquées. Plusieurs hypothèses pouvaient expliquer ces résultats. La première concernait la production des échantillons. En effet, la mesure de la radioactivité de l'échantillon permettait de vérifier que des nanoparticules marquées étaient bien présentes dans le méthanol immédiatement après leur collecte. Cependant, une étape d'évaporation du méthanol était nécessaire avant de débiter l'étude en MALDI-TOF. Les nanoparticules étant volatiles, il est possible qu'elles aient été éliminées lors de cette étape. Par ailleurs, il est possible que du fait de leur composition, les nanoparticules de carbone soient difficiles à ioniser, ne permettant pas d'obtenir des conditions d'analyses optimales. Nous devons également garder à l'esprit que la présence de fullerènes dans l'aérosol de $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -nanoparticule était une hypothèse controversée pour différentes raisons. En effet, certains auteurs n'ont pas réussi à les mettre en évidence en MALDI-TOF alors que d'autres considéraient que les conditions de production des $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -nanoparticules de carbone qui étaient identiques à celles des ^{68}Ga -nanoparticules de carbone n'étaient pas optimales pour la production de fullerènes (56, 57). De plus, en 1993, il a été montré que des nanoparticules de carbone contenant du fer préparées à l'aide d'un procédé proche de celui utilisé dans ce travail avaient une structure et une taille proches de celle observée au MET pour les $^{99\text{m}}\text{Tc}$ et ^{68}Ga -nanoparticules de carbone. En effet, ces particules mesuraient entre 50 et 200 nm, avaient une forme à tendance

sphérique et semblaient être composées de couches de carbone parallèles les unes aux autres (figure 8) (90). Les auteurs parlaient alors de « super fullerènes multicouches ».

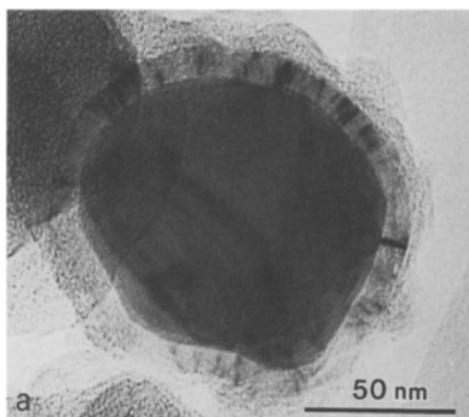


Figure 8 : image MET d'une particule constituée de Fe₃C (cementite) encapsulée par du carbone graphitique. D'après Saito et al. *Chemical Physics Letters*, 1993.

Concernant l'étude de la composition des produits finis par microscopie électronique à balayage couplée à une analyse EDX, bien que peu informative du fait de la limite de sensibilité de la technique, elle a révélé une légère différence entre les échantillons d'aérosols de ^{99m}Tc et ⁶⁸Ga-nanoparticules de carbone étudiés. En effet, l'échantillon d'aérosol de nanoparticules marquées au ^{99m}Tc semblait contenir plus de NaCl que l'échantillon de ⁶⁸Ga-nanoparticules de carbone. Cependant, cette différence pouvait être expliquée de 2 manières qui étaient liées. L'éluat de ^{99m}Tc était composé en majeure partie de NaCl 0,9% alors que celui de ⁶⁸Ga contenait essentiellement de l'HCl 0,1N. Grâce aux images obtenues par microscopie électronique en transmission, nous avons observé des cristaux qui dans les échantillons de technegas étaient très certainement des cristaux de sodium tels qu'ils avaient déjà été décrits dans la littérature (57-59). La présence de tels cristaux dans l'échantillon analysé pouvait également expliquer la teneur en Na relativement importante de l'échantillon de ^{99m}Tc-nanoparticules de carbone. Des cristaux ont également été observés dans les échantillons de ⁶⁸Ga-nanoparticules de carbone. Plusieurs hypothèses pouvaient être envisagées quant à la composition de ces cristaux. En effet, l'éluat de ⁶⁸Ga utilisé pour la préparation des nanoparticules de carbone marquées au ⁶⁸Ga était issu d'un générateur ayant une colonne d'oxyde de titane (TiO₂). Les éluats

provenant de ce type de générateurs sont connus pour contenir des impuretés métalliques comme le titane (Ti), le fer (Fe), le zinc (Zn) ou le Ga natif, il était donc envisageable que les cristaux présents dans les échantillons soient des cristaux de chlorure de Ti ou de fer ou de zinc ou de Ga ou même des cristaux contenant un mélange de ces impuretés (51, 91). La forme quadratique des cristaux était concordante avec ces hypothèses.

De plus, il est très probable que les nanoparticules de carbone préparées avec l'éluat de ^{68}Ga aient incorporé les impuretés métalliques contenues dans l'éluat. Cependant, les méthodes utilisées dans cette étude n'étaient pas suffisamment sensibles pour permettre de détecter la présence des métaux ($^{99\text{m}}\text{Tc}$, ^{68}Ga , Zn, Fe,...) dans les nanoparticules. L'utilisation d'autres techniques telles que la spectrométrie de masse par plasma à couplage inductif auraient probablement permis une analyse plus fine.

Par ailleurs, il n'a pas été non plus possible d'analyser précisément la répartition de la radioactivité dans les nanoparticules de carbone. De manière approximative, nous avons déterminé que plus de 80% du ^{68}Ga des échantillons étudiés était retrouvé dans des nanoparticules ayant un diamètre inférieur ou égal à 80 nm. Un certain nombre de nanoparticules primaires contenaient donc le marqueur radioactif mais nous ne savions pas quelle proportion de nanoparticules était marquée. Or ce pourcentage qui pourrait s'apparenter à un rendement de marquage était important pour assurer une répartition homogène de la radioactivité dans les poumons et permettre l'obtention d'images qualitatives. Cependant, les études chez l'homme et l'animal ont montré une distribution de la radioactivité cohérente dans les poumons après l'inhalation de ^{68}Ga -nanoparticules de carbone (46, 76, 77).

Notons également, que nous nous sommes essentiellement intéressés aux ^{68}Ga -nanoparticules primaires plutôt qu'aux agrégats. En réalité notre modèle de prélèvement sur un filtre pouvait favoriser l'agrégation des nanoparticules primaires. Il était donc difficile d'extrapoler le devenir de potentiels agrégats formés durant le procédé de préparation et d'inhalation. Cependant, les ^{68}Ga -

nanoparticules de carbone ayant les mêmes propriétés physiques que les nanoparticules marquées au ^{99m}Tc , et le comportement des 2 types de nanoparticules lors des prélèvements sur filtre ayant été identique, l'extrapolation du comportement *in vivo* des ^{99m}Tc -nanoparticules de carbone à celui des ^{68}Ga -nanoparticules de carbone semblait cohérente.

V. Conclusion

Au regard des résultats obtenus avec cette étude, les ^{68}Ga -nanoparticules préparées à partir d'un éluat de ^{68}Ga selon le même procédé que celui utilisé pour la production de technegas présentait les mêmes propriétés de forme, taille et structure que les ^{99m}Tc -nanoparticules de carbone aérosolisées qui possèdent une AMM pour la scintigraphie de ventilation pulmonaire. Il semblait donc cohérent de considérer qu'un aérosol de ^{68}Ga -nanoparticules de carbone serait un médicament radiopharmaceutique adapté pour la réalisation de TEP de ventilation pulmonaire. Les données de la littérature concernant différentes études cliniques déjà menées avec cet aérosol allaient également dans ce sens (1, 3, 46, 76, 92).

Ce travail original n'avait jamais été réalisé auparavant. Il nous a conduits à conclure que les propriétés pharmacologiques des ^{68}Ga -nanoparticules de carbone étaient identiques à celles des ^{99m}Tc -nanoparticules de carbone, ce que nous avons pu vérifier sur les images acquises dans le cadre des essais cliniques ci-dessous (figure 9):

- ✓ PETEP (NCT04179539) pour lequel 79/100 patients ont déjà été inclus (soit 79 TEP/TDM de ventilation et de perfusion réalisés à ce jour).
- ✓ EOLE (NCT05103670) pour lequel le premier patient été inclus récemment.

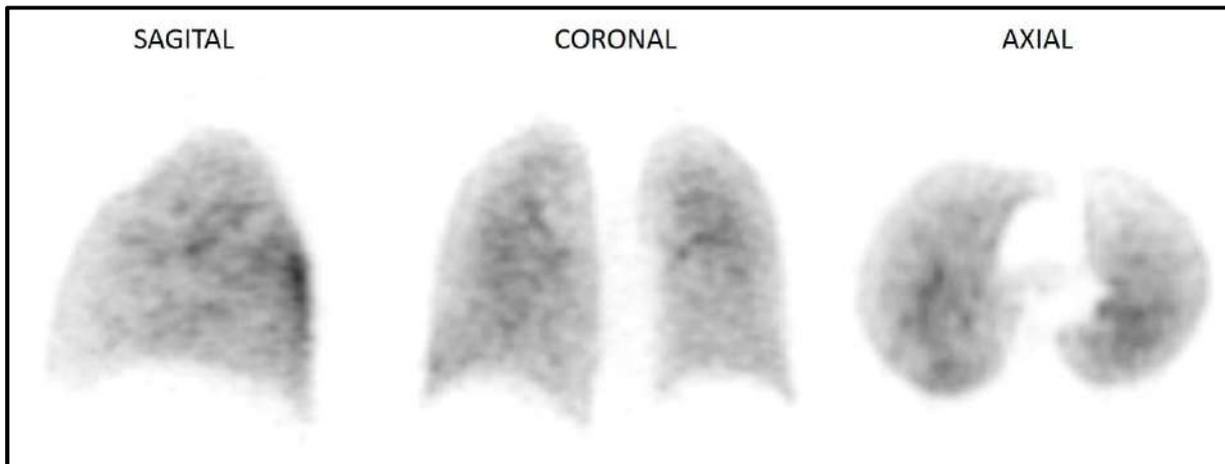


Figure 9 : exemple de TEP de ventilation pulmonaire réalisée après inhalation de ^{68}Ga -nanoparticules de carbone aérosolisées.

Par ailleurs, ce travail a été valorisé par :

- ✓ Une publication dans la revue *Molecular Imaging and Biology* (annexe 2) :

Blanc-Béguin, F., Elies, P., Robin, P., Tripier, R., Kervarec, N., Lemarie, C. A., Hennebicq, S., Tromeur, C., Cogulet, V., Salaun, P. Y., Le Roux, P. Y. ^{68}Ga -Labelled Carbon Nanoparticles for Ventilation PET/CT Imaging: Physical Properties Study and Comparison with Technegas®. *Mol Imaging Biol.* 2020. 23(1) :62-69.

- ✓ Une communication orale au Congrès Européen de l'European Association of Nuclear Medicine (EANM Barcelone 2019)

Blanc-Béguin, F., Elies, P., Kervarec, N., Robin, P., Tripier, R., Lemarie, C. A., Hennebicq, S., Tromeur, C., Salaun, P. Y., Le Roux, P. Y. ^{68}Ga -Labelled Carbon Nanoparticles for Ventilation PET/CT Imaging: Physical Properties Study and Comparison with Technegas®. *Congress of European Association of Nuclear Medicine. (Barcelona. October 2019).*

- ✓ Une communication orale au 6^e Journées Francophones de Médecine Nucléaire (congrès virtuel 2020)

Blanc-Béguin, F., Elies, P., Kervarec, N., Robin, P., Tripier, R., Lemarie, C. A., Hennebicq, S., Tromeur, C., Salaun, P. Y., Le Roux, P. Y. Nanoparticules de carbone marquées au Ga-68 pour la TEP de ventilation pulmonaire : étude des propriétés physiques et comparaison au Technegas®. *6^e Journées Francophones de Médecine Nucléaire (congrès virtuel. Novembre 2020).*

- ✓ Une intervention en tant qu'oratrice au 17th Annual CPD Conference organisée par la RAINS (Rural Alliance In Nuclear Scintigraphy) (Australie 2020, intervention à distance)

Le Roux, P.Y., Blanc-Béguin, F. ⁶⁸Gallium Ventilation/Perfusion PET/CT imaging Current status and future challenges. *17th Annual CPD Conference (Australie octobre 2020, intervention à distance)*.

- ✓ La participation à la rédaction d'un article accepté dans la revue Clinical Nuclear Medicine (annexe 5):

Le Roux, P. Y., Schafer, W. M., Blanc-Béguin, F., Tulchinsky, M. Ventilation Scintigraphy with radiolabeled carbon nanoparticular aerosol (Technegas) State-of-the-art review and diagnostic applications to pulmonary embolism during COVID-19 Pandemic. *Clinical Nuclear Medicine*.

Ce chapitre a également contribué à la rédaction d'une revue de la littérature dans la revue Pharmaceuticals (annexe 4) :

Blanc-Béguin, F., Hennebicq, S., Robin, P., Tripier, R., Salaun, P. Y., Le Roux, P. Y. Radiopharmaceutical Labelling for Lung Ventilation/Perfusion PET/CT Imaging: A Review of Production and Optimization Processes for Clinical Use. *Pharmaceuticals*. 2022. 15(5): 518

L'ensemble de ce travail m'a donné l'opportunité de participer à la rédaction d'un guide pour la rédaction de protocoles pour la scintigraphie pulmonaire:

Le Roux, P. Y., Blanc-Béguin, F., Bonnefoy, P. B., Bourhis, D., Camilleri, S., Moreau-Triby, C., Pinaquy, J. B., Salaün, P. Y. Guide pour la rédaction de protocoles pour la scintigraphie pulmonaire. *Médecine Nucléaire*. 2021. 45 : 85

Chapitre III :

**DOSIMETRIE DU TRAVAILLEUR LORS DE LA
REALISATION D'UN TEP/TDM PULMONAIRE AU ^{68}Ga**

I. Introduction

Les travaux présentés dans ce travail ont confirmé la pertinence de l'utilisation des [^{68}Ga]Ga-MAA pour la TEP de perfusion pulmonaire et celle des ^{68}Ga -nanoparticules de carbone pour la TEP de ventilation pulmonaire en comparant leurs propriétés physiques telles que la structure ou la taille à leurs équivalents marqués au $^{99\text{m}}\text{Tc}$. Par ailleurs, les procédés de préparation des MRP de la TEP/TDM pulmonaire ont été simplifiés et leur validation permettra de faciliter l'implémentation de ce nouvel examen dans les services de médecine nucléaire. Cependant, un point important pour l'implémentation clinique de l'examen concernait la radioprotection du personnel participant à la mise en œuvre d'une TEP pulmonaire au ^{68}Ga .

En effet, l'utilisation d'un émetteur β^+ à l'origine de photons d'annihilation d'une énergie de 511 keV rendait la TEP pulmonaire plus irradiante pour le personnel qui participait à la réalisation de l'examen dont notamment les manipulateurs en électroradiologie médicale (MERM) qui préparaient l'aérosol de ^{68}Ga -nanoparticules de carbone et prenaient en charge le patient mais également les radiopharmaciens qui préparaient et dispensaient la suspension de [^{68}Ga]Ga-MAA. Les données de la littérature concernant la dosimétrie du personnel ont montré selon les activités manipulées, des doses corps entier variant entre 0,2 et 1,7 μSv pour un MERM prenant en charge un patient venant passer une scintigraphie pulmonaire contre 2,5 à 6,3 μSv s'il s'agissait d'un examen TEP corps entier (81, 82, 86, 87). De plus, les ^{68}Ga -nanoparticules de carbone étaient préparées avec un générateur Technegas® PLUS blindé pour être utilisé avec du $^{99\text{m}}\text{Tc}$ ($E_\gamma = 140 \text{ keV}$) et non une émission β^+ à l'origine de photons d'annihilation d'une énergie de 511 keV.

Dans le but de sécuriser l'implémentation de la TEP pulmonaire au ^{68}Ga dans les services de médecine nucléaire, il nous paraissait important d'obtenir les données dosimétriques.

Du fait de l'utilisation d'un aérosol marqué au ^{68}Ga pour la ventilation pulmonaire, il était nécessaire d'évaluer les expositions interne et externe des MERM. Par ailleurs, la préparation et la dispensation

des [⁶⁸Ga]Ga-MAA étant également des étapes irradiantes malgré l'utilisation de matériels de protection individuelle, une étude dosimétrique de cette partie paraissait également intéressante.

En conséquence, les objectifs de cette étude furent les suivants : (1) évaluer l'exposition externe ainsi que la dose aux extrémités du personnel effectuant la préparation et la dispensation des seringues des [⁶⁸Ga]Ga-MAA, (2) évaluer l'exposition corps entier d'un MERM prenant en charge un patient bénéficiant d'un TEP pulmonaire et (3) comparer les valeurs précédentes à celles obtenues dans les mêmes conditions pour une scintigraphie pulmonaire ainsi qu'aux valeurs d'exposition externe obtenues pour la prise en charge d'un patient venant pour d'autres examens TEP ([¹⁸F]FDG et [⁶⁸Ga]Ga-DOTATOC).

II. Matériels et méthodes

A. TEP et scintigraphie pulmonaires

La scintigraphie et la TEP pulmonaires pouvaient être divisées en 2 phases.

La phase de ventilation réalisée en premier était chronologiquement composée de la préparation de l'aérosol, son administration et l'acquisition des images. Elle était immédiatement suivie par l'examen de la perfusion pulmonaire, lui-même composé de la préparation de la suspension de MAA marqués par la radiopharmacie, l'administration de cette suspension, l'acquisition des images de perfusion et l'accompagnement du patient à la sortie du service lorsque l'examen est terminé.

Tous les actes des 2 phases étaient réalisés par les MERM excepté la préparation de la suspension de MAA marqués qui était effectuée par le radiopharmacien.

1. Le TEP pulmonaire

Pour la TEP de ventilation pulmonaire, 0,17 à 0,34 mL d'éluat de ⁶⁸Ga était introduit dans le creuset de graphite préalablement humidifié avec de l'éthanol absolu, lequel était successivement chauffé 6 min à 70°C puis 15 s à 2250 ± 50°C dans une atmosphère saturée en argon ultra pur. Le creuset de graphite était chargé 2 fois afin d'obtenir une concentration radioactive plus importante.

Pendant les phases de chauffage, les MERM restaient à environ 1 m du générateur de Technegas™ PLUS.

Pour l'administration de l'aérosol par inhalation, le patient réalisait 5 à 10 cycles respiratoires. L'activité déposée dans les poumons était mesurée au niveau de la poitrine du patient au cours de la ventilation à l'aide d'un détecteur Geiger-Müller. Une cloche d'aspiration (LemerPax®, France) était placée au niveau du visage du patient afin de limiter la contamination de l'air par l'aérosol. Durant toute la phase d'inhalation, le MERM était à côté du patient.

Immédiatement après la fin de l'administration, le patient était accompagné dans la salle de TEP et installé sur la table du TEP par le MERM pour procéder à l'acquisition des images. Pendant la phase d'acquisition le MERM était dans une autre pièce.

Pour la TEP de perfusion pulmonaire, la suspension de [⁶⁸Ga]Ga-MAA était préparée par le radiopharmacien d'après le procédé de synthèse mis au point dans le premier chapitre de cette partie expérimentale.

Brièvement, le marquage des MAA était réalisé de manière entièrement automatisée sur un automate de synthèse miniAIO (Trasis®) à partir d'une trousse commerciale (Pulmocis®, Curium) et de 5 mL de ⁶⁸GaCl₃ obtenu à partir d'un générateur de ⁶⁸Ge/⁶⁸Ga (GalliaPharm®, E&Z RadioPharma GmbH). Au cours de ce procédé, 2 mL d'éluat de ⁶⁸Ga étaient mis de côté de manière automatique pour la préparation des ⁶⁸Ga-nanoparticules de carbone aérosolisées.

A la fin du procédé de synthèse, le radiopharmacien prélevait :

0,2 mL de [⁶⁸Ga]Ga-MAA pour les contrôles qualités

0,35 mL d'éluat de ⁶⁸Ga pour la préparation des ⁶⁸Ga-nanoparticules de carbone

L'activité prescrite pour la réalisation de la TEP de perfusion pulmonaire.

L'administration des MAA marqués était réalisée en IVD par le MERM alors que le patient était toujours installé sur le lit de la TEP suite à l'acquisition des images de ventilation pulmonaire. L'acquisition des images de perfusion débutait immédiatement après l'injection des $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-MAA}$. Durant cette étape, le MERM était dans une autre pièce.

2. La scintigraphie pulmonaire

Pour la scintigraphie de ventilation pulmonaire, les $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -nanoparticules de carbone aérosolisées étaient préparées par le MERM à l'aide du générateur de Technegas™PLUS et à partir d'un éluat de $^{99\text{m}}\text{Tc}$ de la même manière que celle décrite pour la TEP de ventilation pulmonaire.

L'administration de l'aérosol et l'acquisition des images suivaient le même protocole que celui appliqué à la TEP de ventilation pulmonaire.

Pour la scintigraphie de perfusion pulmonaire, la suspension de $[^{99\text{m}}\text{Tc}]\text{Tc-MAA}$ était préparée et la seringue dispensée par la radiopharmacie. Cette phase n'a pas été incluse dans l'étude dosimétrique. Les MAA marqués étaient administrés en IVD par le MERM alors que le patient était toujours allongé sur le lit de la caméra suite à l'acquisition des images de ventilation.

B. TEP au $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$ et au $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-DOTATOC}$

Pour l'étude dosimétrique, les procédures de TEP au $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$ et au $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-DOTATOC}$ ont été considérées de l'injection du médicament radiopharmaceutique à l'accompagnement du patient à la sortie du service après l'acquisition des images. L'installation des patients dans le box d'injection ainsi que leur installation sur la table d'acquisition faisaient également partie de la procédure.

Le $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$ prêt à l'emploi était administré par le MERM de manière semi automatisée à l'aide d'un injecteur RAD-Inject® (Tema Sinergie®, Italie).

Le $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-DOTATOC}$ préalablement préparé par la radiopharmacie était injecté manuellement par le MERM.

C. Matériel de radioprotection

La synthèse des [^{68}Ga]Ga-MAA était réalisée dans une enceinte blindée de 50 mm de plomb. Le flacon de produit fini était placé dans un protège flacon en verre au plomb de 21,5 mm d'épaisseur.

Les seringues étaient toutes utilisées avec un protège seringue en tungstène de 5 mm d'épaisseur si elles contenaient du ^{68}Ga ou du ^{18}F et de 2 mm d'épaisseur si elles contenaient du $^{99\text{m}}\text{Tc}$. Ces seringues étaient transportées dans des valisettes de transport en tungstène de 10 mm d'épaisseur pour le ^{68}Ga et le ^{18}F et de 3 mm d'épaisseur pour le $^{99\text{m}}\text{Tc}$.

D. Mesures des doses d'exposition

Les mesures effectuées pour calculer la dosimétrie corps entier et aux extrémités du radiopharmacien ont été effectuées durant 5 synthèses et dispensations de [^{68}Ga]Ga-MAA.

Les mesures réalisées pour évaluer l'exposition des MERM ont été faites pour 10 TEP/TDM pulmonaires et 10 scintigraphies ainsi que pour 10 TEP au [^{18}F]FDG et 10 TEP au [^{68}Ga]Ga-DOTATOC.

Du fait de la difficulté à manipuler avec les pastilles TLD fixées au bout des doigts, les mesures aux extrémités ont été réalisées pour 5 procédures de chaque type d'examen.

Pour déterminer l'exposition externe, la dose corps entier était mesurée avec un dosimètre opérationnel (DO) EPD mk2 (APVL, France) positionné dans la plus haute poche de la blouse, du côté gauche. Pour les mesures faites dans le cadre des TEP et scintigraphies pulmonaires, le MERM changeait de DO entre la phase de ventilation et celle de perfusion afin de pouvoir évaluer ces 2 phases indépendamment l'une de l'autre (figure 1).

Du fait de la préparation et de l'administration de l'aérosol de nanoparticules de carbone marquées, l'exposition interne a également été mesurée en plus de l'exposition externe pour les phases de ventilation (figure 1). Pour cela, la dose inhalée par le MERM a été évaluée à partir de prélèvements d'air réalisés pendant toute la durée de l'administration de l'aérosol. Pour cela, un préleveur d'air PA 2000 (Algade®) et des filtres en cellulose et fibres de verre ont été utilisés. La radioactivité des filtres

était comptée immédiatement après le prélèvement avec un spectromètre gamma équipé d'une sonde NaI(Tl) (Canberra®).

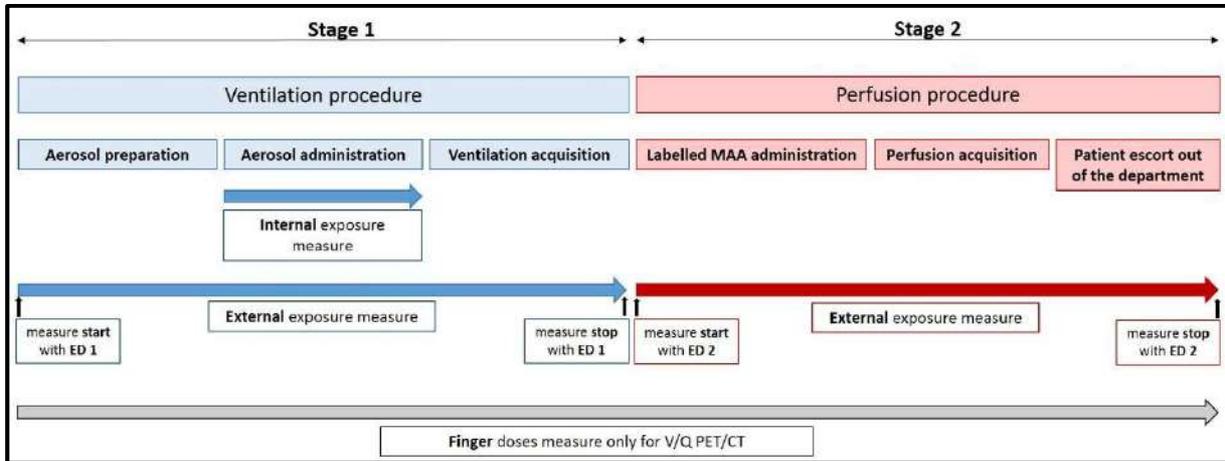


Figure 1 : Déroulement des mesures de dosimétrie des MERM prenant en charge des patients bénéficiant de TEP/TDM ou scintigraphie pulmonaire.

Les doses aux extrémités étaient déterminées à l'aide de pastilles thermoluminescentes (TL) portées au pouce et à l'index de chaque main durant la totalité de la prise en charge des patients venant pour une TEP pulmonaire (ventilation + perfusion). La dose reçue par les pastilles était déterminée par le fournisseur (IRSN, France). La dose la plus péjorative était conservée comme valeur référence pour chaque type de procédure évaluée.

La dose efficace (E) totale en μSv était calculée d'après la formule suivante (guide IRSN : rapport PRP-HOM/DIR n°2015-00009) :

$$E_{\text{totale}} = E_{(\text{inhalation ventilation})} + E_{(\text{exposition externe ventilation})} + E_{(\text{exposition externe perfusion})}$$

Où $E_{(\text{inhalation ventilation})}$ est la dose efficace engagée par ventilation en μSv .

$$E_{(\text{inhalation ventilation})} = I \times h(g)$$

I représentait l'incorporation en Bq et h(g) la dose engagée par unité d'incorporation par inhalation (DPUI inhalation) exprimée en $\mu\text{Sv}\cdot\text{Bq}^{-1}$.

Avec $h(g) = 2,8 \times 10^{-5} \mu\text{Sv}\cdot\text{Bq}^{-1}$ pour le ^{68}Ga et $1,2 \times 10^{-5} \mu\text{Sv}\cdot\text{Bq}^{-1}$ pour le ^{99m}Tc .

En prenant l'hypothèse que tout ce qui est inhalé restait dans les poumons,

$$I = d \times t \times c \quad \text{où} \quad d = \text{débit respiratoire du travailleur (1,2 m}^3/\text{h)}.$$

t = temps de présence en heures du travailleur dans le milieu contaminé (temps de présence du personnel pendant une ventilation pulmonaire évalué à 10 min pour cette étude).

c = concentration radioactive en Bq/m^3 de la pièce en ^{68}Ga ou ^{99m}Tc .

$E_{(\text{exposition externe ventilation})}$ et $E_{(\text{exposition externe perfusion})}$ étaient les doses efficaces par exposition externe lors des phases de ventilation et de perfusion. Elles étaient données par la mesure en hp10 du dosimètre opérationnel pour chaque phase étudiée (préparation des MAA marqués, ventilation, perfusion).

Les résultats de doses effectives, de durées d'examen, d'activités préparées et injectées ont été exprimés sous forme de moyenne \pm écart type. Un test de Mann et Whitney a été réalisé pour comparer les doses effectives et les doses aux extrémités.

III. Résultats

A. Dosimétrie liée à la préparation des $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-MAA}$

L'activité finale des 5 suspensions de $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-MAA}$ préparées durant la période de mesure était comprise entre 333 et 657 MBq. Les seringues dispensées avaient une activité moyenne de $52,2 \pm 4,5$ MBq pour les MAA marqués et de $51,7 \pm 6,6$ pour celles d'éluat de ^{68}Ga .

Le temps moyen d'exposition du radiopharmacien était de 105 ± 14 min.

La dose efficace totale liée à l'exposition externe était de 2,86 μSv par préparation (préparation + dispensation des seringues) et la dose aux extrémités était de 0,94 mSv (hp 0,07).

B. Dosimétrie des MERM

Le tableau 1 résume les résultats de la dose efficace reçue par les MERM prenant en charge les patients bénéficiant d'une TEP/TDM ou d'une scintigraphie pulmonaire en séparant les phases de ventilation et de perfusion.

		Ventilation			Perfusion	Total
		Exposition externe (dose efficace en μSv)	Exposition interne (dose efficace en μSv)	Dose efficace totale (μSv)	Dose efficace totale (μSv)	Dose efficace totale (μSv)
TEP/TDM	Moyenne	1,71	0,22	1,93	0,90	2,83
	ET	0,48	0,31	0,60	0,30	0,67
Scintigraphie	Moyenne	0,67	0,08	0,75	0,41	1,16
	ET	0,26	0,09	0,25	0,24	0,34

Tableau 1: Doses efficaces reçues par les MERM prenant en charge un patient bénéficiant d'une TEP/TDM ou d'une scintigraphie pulmonaire.

1. TEP pulmonaire

L'activité moyenne de [^{68}Ga]Ga-MAA contenue dans les seringues de dispensation lors des 10 examens était de $49,24 \pm 7,22$ MBq et celle de l'éluat de ^{68}Ga utilisé pour la production des ^{68}Ga -nanoparticules de carbone était de $56,30 \pm 8,42$ MBq.

Lors d'une phase de ventilation, la dose efficace totale reçue par un MERM était évaluée à $1,93 \pm 0,60$ μSv en moyenne dont $0,22 \pm 0,31$ μSv correspondant à l'exposition interne, alors que celle reçue durant la phase de perfusion était de $0,90 \pm 0,30$ μSv en moyenne. Il en découlait une dose efficace totale de $2,83 \pm 2,67$ μSv en moyenne. La dose aux extrémités reçue par le MERM pendant la totalité de la TEP pulmonaire était de 0,35 mSv pour la dose la plus péjorative (tableau 2).

La durée moyenne de la totalité de l'exposition était de 68 ± 20 min.

2. Scintigraphie pulmonaire

L'activité moyenne de [^{99m}Tc]Tc-MAA dispensée lors des 10 scintigraphies pulmonaires était de $170,9 \pm 12,9$ MBq et celle de l'éluat de ^{99m}Tc utilisé pour la préparation des ^{99m}Tc -nanoparticules de carbone était de $582 \pm 71,1$ MBq en moyenne.

La dose efficace moyenne reçue par un MERM était de $0,75 \pm 0,25$ μSv dont $0,08 \pm 0,09$ μSv pour l'exposition interne lors de la réalisation d'une scintigraphie de ventilation pulmonaire et de $0,41 \pm 0,24$ μSv pour la scintigraphie de perfusion soit une dose efficace totale moyenne de $1,16 \pm 0,34$ μSv . Cette dose était significativement inférieure à celle obtenue pour la réalisation d'une TEP/TDM pulmonaire ($p < 0,001$) alors que la durée de l'exposition moyenne de 64 ± 21 min lors de la réalisation d'une scintigraphie pulmonaire était sensiblement identique à celle d'une TEP pulmonaire.

3. TEP au [^{18}F]FDG

Comme indiqué dans le tableau 2, la moyenne de la dose effective totale reçue par un MERM lors de la prise en charge d'un patient venant pour une TEP au [^{18}F]FDG était de $2,86 \pm 1,79$ μSv . La dose aux extrémités était de 0,01 mSv. Ces résultats étaient obtenus pour une activité moyenne manipulée de $231,88 \pm 70,91$ MBq et une durée moyenne d'exposition de 75 ± 9 min.

Aucune différence significative n'a été mise en évidence entre la moyenne de la dose effective totale obtenue pour une TEP pulmonaire et une TEP au [^{18}F]FDG.

4. TEP au [^{68}Ga]Ga-DOTATOC

La dose effective totale moyenne reçue par le MERM lors de la prise en charge d'un patient bénéficiant d'une TEP au [^{68}Ga]Ga-DOTATOC était de $2,13 \pm 0,77$ μSv pour une dose moyenne administrée de $207,81 \pm 52,80$ MBq (tableau 2). La dose aux extrémités la plus péjorative était de 0,32 mSv et la durée moyenne de la prise en charge de 66 ± 7 min.

La différence entre la dose effective totale reçue lors d'une TEP au [⁶⁸Ga]Ga-DOTATOC et celle reçue lors d'une TEP pulmonaire n'était pas significative ($p < 0,001$).

	Dose efficace totale moyenne (moyenne \pm ET μ Sv)	Dose aux extrémités (mSv)	Durée moyenne de l'exposition (min)	Activité totale des seringues dispensées (moyenne \pm ET MBq)
[⁶⁸ Ga]Ga-DOTATOC	2,13 \pm 0,77	0,32	66 \pm 7	207,81 \pm 52,80
[¹⁸ F]FDG	2,86 \pm 1,79	0,01	75 \pm 9	231,88 \pm 70,91
TEP/TDM pulmonaire	2,83 \pm 0,67	0,35	68 \pm 20	105,55 \pm 8,59

Tableau 2 : Doses effectives totales et doses aux extrémités reçues par les MERM, durée d'exposition et activités manipulées en fonction de l'examen TEP réalisé. L'injection de [¹⁸F]FDG était effectuée à l'aide d'un injecteur semi-automatique.

IV. Discussion

Alors qu'aucune donnée concernant la dosimétrie du travailleur prenant en charge des patients bénéficiant d'une TEP pulmonaire n'était disponible dans la littérature, **ce travail a montré, que la dose efficace reçue par le MERM lors d'un tel examen était 2,4 fois supérieure à celle reçue lors de la réalisation d'une scintigraphie pulmonaire. Cependant, la réalisation d'une TEP pulmonaire a généré une exposition corps entier pour le MERM du même ordre de grandeur qu'une TEP au [⁶⁸Ga]Ga-DOTATOC ou au [¹⁸F]FDG classiquement réalisés dans la plupart des services de médecine nucléaire.**

L'une des étapes les plus irradiantes pour le travailleur lors de la réalisation d'un examen au ⁶⁸Ga est la synthèse du MRP. Dans notre cas, le procédé de synthèse entièrement automatisé tel que décrit dans le chapitre I de la partie expérimentale permettait de diminuer l'irradiation notamment aux extrémités. Cependant, la dosimétrie aux extrémités pour une préparation restait relativement élevée avec 0,94 mSv pour la mesure la plus péjorative. Toutefois, cette valeur était environ 500 fois plus faible que la valeur maximale de 500 mSv annuels autorisée par la directive européenne EURATOM 96/29 du 13/05/1996. En considérant 1 synthèse par jour, par 1 seul opérateur, tous les jours ouvrables

de l'année, la dose annuelle aux extrémités serait de 244 mSv, laissant encore une marge pour les autres potentielles préparations. Par ailleurs, la dose efficace totale reçue par le radiopharmacien durant la phase de préparation était quasiment identique à celle reçue par le MERM (2,86 μ Sv pour le radiopharmacien contre 2,83 pour le MERM) pour une procédure qui durait 30 min de plus en moyenne (105 \pm 14 min pour la préparation et 68 \pm 20 min pour la prise en charge du patient).

Concernant les MERM, l'augmentation de l'irradiation mise en évidence lors de la prise en charge d'un patient venant pour une TEP pulmonaire en comparaison avec celle d'une scintigraphie pulmonaire (moyenne de la dose efficace totale : 2,83 \pm 0,67 μ Sv pour la TEP et 1,16 \pm 0,34 μ Sv pour la scintigraphie), était concordante avec la littérature qui mentionnait des doses corps entier de 1,5 à 4 fois supérieures à celles de la scintigraphie avec des émetteurs de positons (81, 82, 86, 87). Par ailleurs, les valeurs obtenues pour la scintigraphie pulmonaire étaient concordantes avec la littérature qui indiquait des doses corps entier pour la scintigraphie de perfusion pulmonaire aux [^{99m}Tc]Tc-MAA de 0,4 \pm 0,2 μ Sv et 1,1 \pm 1,2 μ Sv sachant que la valeur obtenue dans ce travail était de 0,41 \pm 0,24 μ Sv (81, 82). Il existait en revanche, peu de données publiées sur la dose interne liée à la scintigraphie de ventilation pulmonaire au technegas (0,002 μ Sv/examen dans un cas et 0,17 μ Sv dans l'autre) mais qui restaient en cohérence avec nos résultats (0,08 μ Sv / examen) (83, 84).

L'utilisation d'un émetteur β^+ générant des photons d'annihilation de haute énergie ($E_\gamma = 511$ keV) au lieu d'un émetteur γ de basse énergie ($E_\gamma = 140$ keV) expliquait la dosimétrie 1,5 à 4 fois supérieure de la TEP par rapport à celle de la scintigraphie pulmonaire. L'absence de blindage du générateur TechnegasTMPLUS permettant de générer l'aérosol de ^{68}Ga -nanoparticules de carbone initialement conçu pour le ^{99m}Tc et non adapté aux émetteurs de photons γ haute énergie de l'appareil pouvait contribuer à augmenter l'irradiation des opérateurs, et posait la question de l'ajout d'un écran plombé. Cependant, dans ce travail, bien qu'aucun écran supplémentaire n'ait été ajouté sur le générateur TechnegasTM PLUS pour son utilisation avec le ^{68}Ga , la part relative de la dose efficace totale reçue par le MERM liés à la préparation de la ventilation était quasiment identique à celle observée pour la

réalisation d'une scintigraphie pulmonaire (68% pour la TEP et 65% pour la scintigraphie). L'absence de blindage ne semblait donc pas augmenter la contribution de la phase de ventilation à l'irradiation totale reçue lors de la prise en charge d'un patient. Il est probable que la haute énergie des photons γ du ^{68}Ga ait été contre balancée par les activités moindres manipulées pour la TEP pulmonaire ($56,30 \pm 8,42$ MBq d'éluat de ^{68}Ga versus $582,0 \pm 71,1$ MBq d'éluat de $^{99\text{m}}\text{Tc}$ pour le marquage des nanoparticules de carbone et $49,24 \pm 7,22$ MBq de ^{68}Ga]Ga-MAA contre $170,9 \pm 12,9$ MBq pour la perfusion).

Par ailleurs, dans nos conditions de réalisation d'examen, la TEP pulmonaire n'était pas plus irradiante pour les MERM que d'autres examens réalisés avec des émetteurs β^+ . En effet, les doses efficaces et les doses aux extrémités obtenues lors de la prise en charge de patients venant pour une TEP au ^{68}Ga]Ga-DOTATOC étaient du même ordre de grandeur que celles trouvées pour une TEP pulmonaire (respectivement $2,13 \pm 0,77$ et $2,83 \pm 0,67$ pour les doses efficaces ; $0,32$ et $0,35$ mSv pour les doses aux extrémités). Ces doses aux extrémités étaient inférieures à celles publiées dans la littérature pour le ^{68}Ga]Ga-DOTANOC qui étaient de $1,26 \pm 0,3$ mSv pour l'annulaire gauche et $1,03 \pm 0,13$ mSv pour l'annulaire droit avec des doses injectées du même ordre de grandeur que celles de ^{68}Ga]Ga-DOTATOC de ce travail. Cependant, aucun protège seringue n'était utilisé pour l'injection du ^{68}Ga]Ga-DOTANOC contrairement à ce qui a été fait dans notre étude (85). La dose efficace moyenne liée à la réalisation de TEP au ^{18}F]FDG obtenues dans cette étude ($2,86 \pm 1,79$ μSv) était également cohérente avec les données de la littérature qui faisait état de doses variant entre $2,56$ et $2,86$ μSv (81, 87).

Il est intéressant de noter que les doses aux extrémités obtenues pour une TEP pulmonaire et une TEP au ^{68}Ga]Ga-DOTATOC étaient très proches alors que les activités moyennes manipulées pour la TEP pulmonaire étaient 2 fois plus faibles que pour une TEP au ^{68}Ga]Ga-DOTATOC. Le temps d'exposition lors de la manipulation des seringues pouvait expliquer cette différence. En effet, pour une TEP pulmonaire, la manipulation de 2 seringues différentes était nécessaire : une première pour le chargement du creuset de graphite qui parfois nécessitait 2 remplissages puis l'administration

intraveineuse manuelle de la suspension de [^{68}Ga]Ga-MAA alors que pour la TEP au [^{68}Ga]Ga-DOTATOC, une seule seringue était manipulée une seule fois pour l'injection intraveineuse manuelle du MRP. Ainsi, le temps d'exposition des doigts était plus long pour la TEP pulmonaire. Soulignons que la dosimétrie aux extrémités était quasiment nulle pour une TEP au [^{18}F]FDG en raison de l'automatisation de l'injection.

Les résultats de ce travail sont à pondérer en raison de certaines limites, la première étant la faible taille des échantillons (5 à 10 mesures selon le facteur exploré). La seconde est liée à la période des mesures qui ont été faites lors des premières TEP pulmonaires. Dans l'idée de sécuriser l'implémentation de la TEP pulmonaire dans le service, il était en effet, important d'obtenir rapidement des données dosimétriques concernant le personnel. Cependant, dans ces conditions expérimentales au cours desquelles les MERM n'étaient pas familiarisés à la technique, il est fort probable que nous ayons surestimé l'irradiation du personnel nous plaçant ainsi, dans des conditions défavorables. Il semble donc légitime de penser que l'irradiation des MERM familiarisés à la prise en charge des patients dans le cadre d'une TEP pulmonaire en routine serait inférieure à la dose efficace totale observée dans ce travail. Par ailleurs, la dose effective liée à la phase de perfusion a été mesurée systématiquement lors de la prise en charge de patients venant de bénéficier d'une TEP de ventilation et de perfusion pulmonaire. La part d'irradiation du MERM par le patient était due à la fois par les [^{68}Ga]Ga-MAA mais également par les ^{68}Ga -nanoparticules de carbone toujours présentes dans les poumons et n'ayant pas décréu. Dans certaines indications cliniques comme par exemple la planification en radiothérapie, il n'est pas nécessaire d'effectuer une TEP de ventilation en plus de la perfusion. L'irradiation liée à cette TEP de perfusion seule serait donc plus faible que celle rapportée pour la part perfusionnelle des TEP pulmonaires réalisées dans ce travail.

V. Conclusion

Bien que la dose efficace totale reçue par les MERM prenant en charge un patient bénéficiant d'une TEP pulmonaire soit plus élevée que pour une scintigraphie pulmonaire **les résultats de cette étude**

ont montré que la réalisation d'une TEP pulmonaire n'était pas plus irradiante qu'une TEP au [⁶⁸Ga]Ga-DOTATOC aussi bien concernant la dose efficace totale que la dosimétrie aux extrémités.

Ces résultats sont plutôt rassurants et vont dans le sens d'une implémentation en routine de la TEP pulmonaire dans les services de médecine nucléaire.

Les résultats de cette étude ont permis de répondre à une question fréquemment soulevée mais jamais explorée concernant la dosimétrie du travailleur prenant en charge un patient bénéficiant d'une TEP pulmonaire au ⁶⁸Ga.

Sans surprise, la dose efficace reçue par le MERM lors d'un tel examen est 2,4 fois supérieure à celle reçue lors de la réalisation d'une scintigraphie pulmonaire. Cependant, la réalisation d'une TEP pulmonaire a généré une exposition corps entier pour le MERM du même ordre de grandeur qu'une TEP au [⁶⁸Ga]Ga-DOTATOC ou au [¹⁸F]FDG.

Ce travail a été valorisé par :

- ✓ Un article accepté dans la revue *Frontiers in Medicine* (annexe 3) :

Blanc-Béguin, F., Damien, P., Floch, R., Kerleguer, K., Hennebicq, S., Robin, P., Salaun, P. Y., Le Roux, P. Y. Radiation exposure to nuclear medicine technologists performing a V/Q PET: comparison with conventional V/Q scintigraphy, FDG PET and Ga DOTATOC PET procedures.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Conclusion et perspectives

L'ensemble de ce travail avait pour objectif de démontrer la possibilité de l'utilisation des vecteurs validés pour la scintigraphie pulmonaire en TEP. Cette validation comprenait de nombreux challenges. Le premier était de produire des ^{68}Ga Ga-MAA avec un procédé simple, rapide et sécurisé pour le patient et pour la personne préparant le médicament. Le second était de s'assurer du maintien des propriétés pharmacologiques des médicaments radiopharmaceutiques. Enfin, afin de sécuriser l'implémentation de ce nouvel examen, une étude dosimétrique du personnel s'avérait nécessaire.

La synthèse des ^{68}Ga Ga-MAA représentait le challenge le plus important en terme de simplification de procédure. Cependant, comme le montre le chapitre I de cette partie expérimentale, nous avons réussi à mettre au point un procédé entièrement automatisé, simple, rapide, sécurisé et novateur pour préparer des ^{68}Ga Ga-MAA à partir d'une trousse de MAA disponible dans la plupart des services de médecine nucléaire et conformément aux BPP et aux règles de radioprotection. De plus, en montrant que les tailles et formes des MAA n'étaient pas modifiées par le marquage au ^{68}Ga , nous avons validé le maintien des propriétés pharmacologiques principalement liées à ces 2 paramètres.

La production de l'aérosol de ^{68}Ga -nanoparticules de carbone n'a pas nécessité de développement particulier pour sa préparation qui reprend le procédé de production des $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -nanoparticules de carbone. Cependant, aucune donnée sur les propriétés physico-chimiques des ^{68}Ga -naoparticules de carbone n'étant disponible dans la littérature, une partie de ce travail (chapitre II) a consisté à réaliser l'étude de la structure des nanoparticules de carbone. Nous avons ainsi pu vérifier la similitude de taille et de structure des 2 types de nanoparticules de carbone confirmant ainsi l'hypothèse du maintien des propriétés pharmacologiques malgré le changement de radionucléide.

Enfin, l'étude dosimétrique faisant l'objet du chapitre III a permis de sécuriser la radioprotection lié à la mise en œuvre de la TEP pulmonaire.

Le développement des médicaments radiopharmaceutiques a été validé par l'acceptation des DME par l'ANSM. Les perspectives les concernant ont trait à leur accessibilité. En effet, un accès en routine clinique à la TEP pulmonaire implique un accès facile aux médicaments radiopharmaceutiques qui

pourrait se faire par le biais d'une AMM. Nous collaborons actuellement avec les industriels concernés afin d'étudier cette possibilité.

D'un point de vue clinique, les examens déjà réalisés dans le cadre des études PETEP (NCT04179539) (79 TEP de perfusion et ventilation pulmonaire) et PEGASUS (NCT04942275) (120 TEP de perfusion pulmonaire) ont permis de confirmer que la TEP pulmonaire pouvait être réalisée en routine clinique au même titre qu'un examen TEP standard. De plus, les premiers résultats nous confortent dans les bénéfices que peut apporter la technologie TEP dans certaines indications, comme par exemple, l'adaptation des plannings de radiothérapie pour préserver le tissu pulmonaire fonctionnel. De nouveaux projets d'études cliniques multicentriques sont d'ailleurs en cours, l'objectif final étant de permettre à tous les services de médecine nucléaire qui le souhaitent de proposer à leurs cliniciens la possibilité de prescrire cet examen.

Enfin, d'un point de vue dosimétrique, il existe très peu de données concernant la dosimétrie patient dans la littérature. Il serait donc intéressant de les compléter par une étude de la dosimétrie patient.

BIBLIOGRAPHIE

1. Hofman MS, Beaugerard JM, Barber TW, Neels OC, Eu P, Hicks RJ. 68Ga PET/CT ventilation-perfusion imaging for pulmonary embolism: a pilot study with comparison to conventional scintigraphy. *Journal of nuclear medicine : official publication, Society of Nuclear Medicine*. 2011;52(10):1513-9.
2. Le Roux PY, Hicks RJ, Siva S, Hofman MS. PET/CT Lung Ventilation and Perfusion Scanning using Galligas and Gallium-68-MAA. *Seminars in nuclear medicine*. 2019;49(1):71-81.
3. Le Roux PY, Iravani A, Callahan J, Burbury K, Eu P, Steinfort DP, et al. Independent and incremental value of ventilation/perfusion PET/CT and CT pulmonary angiography for pulmonary embolism diagnosis: results of the PECAN pilot study. *European journal of nuclear medicine and molecular imaging*. 2019;46(8):1596-604.
4. Bailey DL, Eslick EM, Schembri GP, Roach PJ. (68)Ga PET Ventilation and Perfusion Lung Imaging-Current Status and Future Challenges. *Seminars in nuclear medicine*. 2016;46(5):428-35.
5. Le Roux PY, Siva S, Callahan J, Claudic Y, Bourhis D, Steinfort DP, et al. Automatic delineation of functional lung volumes with (68)Ga-ventilation/perfusion PET/CT. *EJNMMI research*. 2017;7(1):82.
6. Lucia F, Rehn M, Blanc-Beguín F, Le Roux PY. Radiation Therapy Planning of Thoracic Tumors: A Review of Challenges Associated With Lung Toxicities and Potential Perspectives of Gallium-68 Lung PET/CT Imaging. *Frontiers in medicine*. 2021;8:723748.
7. Le Roux PY, Siva S, Steinfort DP, Callahan J, Eu P, Irving LB, et al. Correlation of 68Ga Ventilation-Perfusion PET/CT with Pulmonary Function Test Indices for Assessing Lung Function. *Journal of nuclear medicine : official publication, Society of Nuclear Medicine*. 2015;56(11):1718-23.
8. Cagle PT, Roggli VL. Pathology of Small Airways. In: Springer, editor. *Dail and Hammar's Pulmonary Pathology*2008. p. 25.
9. Lajoie P, Dagenais G, Ernst P, Neukirch F. Systèmes respiratoire et cardio-vasculaire. In: Edisem, editor. *Environnement et santé publique - Fondements et pratiques*. Paris2003.
10. Vandenberghe S, Moskal P, Karp JS. State of the art in total body PET. *EJNMMI physics*. 2020;7(1):35.
11. Saha PD, Gopal B. *Basics of PET Imaging: Physics, Chemistry, and Regulations* 2015.
12. Liu S, Edwards DS. 99mTc-Labeled Small Peptides as Diagnostic Radiopharmaceuticals. *Chemical reviews*. 1999;99(9):2235-68.
13. Dewanjee MK. The chemistry of 99mTc-labeled radiopharmaceuticals. *Seminars in nuclear medicine*. 1990;20(1):5-27.
14. Papagiannopoulou D. Technetium-99m radiochemistry for pharmaceutical applications. *Journal of labelled compounds & radiopharmaceuticals*. 2017;60(11):502-20.
15. Davinson A, Jones AG. The Chemistry of Technetium (V). *Int J Appl Radiat Isot*. 1982;33:7.
16. Lin MS, Winchell HS, Shipley BA. Use of Fe(II) or Sn(II) alone for technetium labeling of albumin. *Journal of nuclear medicine*. 1971;12(5):8.
17. Lepareur N. Cold Kit Labeling: The Future of (68)Ga Radiopharmaceuticals? *Frontiers in medicine*. 2022;9:812050.
18. Wadas TJ, Wong EH, Weisman GR, Anderson CJ. Coordinating radiometals of copper, gallium, indium, yttrium, and zirconium for PET and SPECT imaging of disease. *Chemical reviews*. 2010;110(5):2858-902.
19. Velikyan I. Prospective of ⁶⁸Ga-radiopharmaceutical development. *Theranostics*. 2014;4(1):34.
20. Fasano M, Curry S, Terreno E, Galliano M, Fanali G, Narciso P, et al. The extraordinary ligand binding properties of human serum albumin. *IUBMB life*. 2005;57(12):787-96.
21. Yamasaki K, Maruyama T, Yoshimoto K, Tsutsumi Y, Narazaki R, Fukuhara A, et al. Interactive binding to the two principal ligand binding sites of human serum albumin: effect of the neutral-to-base transition. *Biochimica et biophysica acta*. 1999;1432(2):313-23.
22. Kratz F. Albumin as a drug carrier: design of prodrugs, drug conjugates and nanoparticles. *Journal of Controlled Release*. 2008;132:13.
23. Carter DC, Ho JX. Structure of serum albumin. *Advances in protein chemistry*. 1994;45:153-203.

24. Esposito TVF, Stutz H, Rodriguez-Rodriguez C, Bergamo M, Charles L, Geczy R, et al. Preparation of Heat-Denatured Macroaggregated Albumin for Biomedical Applications Using a Microfluidics Platform. *ACS biomaterials science & engineering*. 2021;7(6):2823-34.
25. Hunt AP, Frier M, Johnson RA, Berezenko S, Perkins AC. Preparation of Tc-99m-macroaggregated albumin from recombinant human albumin for lung perfusion imaging. *European journal of pharmaceuticals and biopharmaceutics : official journal of Arbeitsgemeinschaft fur Pharmazeutische Verfahrenstechnik eV*. 2006;62(1):26-31.
26. Jain A, Subramanian S, Pandey U, Sarma HD, Ram R, Dash A. In-house preparation of macroaggregated albumin (MAA) for ⁶⁸Ga labeling and its comparison with commercially available MAA. *J radioanal Nucl Chem*. 2016;308:8.
27. Taplin GV, MacDonald NS. Radiochemistry of macroaggregated albumin and newer lung scanning agents. *Seminars in nuclear medicine*. 1971;1(2):132-52.
28. Al-Janabi MA, Yousif ZM, Kadim AH, Al-Salem AM. A new technique for the preparation of ready-to-use macroaggregated albumin (MAA) kits to be labelled with 99mTc for lung scanning. *The International journal of applied radiation and isotopes*. 1983;34(10):1473-8.
29. Arshady R. Albumin microspheres and microcapsules: methodology of manufacturing techniques. *Journal of Controlled Release*. 1990(14):31.
30. Canziani L, Marenco M, Cavenaghi G, Manfrinato G, Taglietti A, Girella A, et al. Chemical and Physical Characterisation of Macroaggregated Human Serum Albumin: Strength and Specificity of Bonds with (99m)Tc and (68)Ga. *Molecules*. 2022;27(2).
31. Vanbilloen HP, Verbeke KA, De Roo MJ, Verbruggen AM. Technetium-99m labelled human serum albumin for ventriculography: a comparative evaluation of six labelling kits. *European journal of nuclear medicine*. 1993;20(6):465-72.
32. Schembri GP, Roach PJ, Bailey DL, Freeman L. Artifacts and Anatomical Variants Affecting Ventilation and Perfusion Lung Imaging. *Seminars in nuclear medicine*. 2015;45(5):373-91.
33. Townsley MI. Structure and Composition of Pulmonary Arteries, Capillaries, and Veins. *Comprehensive Physiology*. 2012;2:35.
34. Shanehsazzadeh S, Jalilian AR, Lahooti A, Geramifar P, Beiki D, Yousefnia H, et al. Preclinical Evaluation of (68)Ga-MAA from Commercial Available (99m)Tc-MAA Kit. *Iranian journal of pharmaceutical research : IJPR*. 2017;16(4):1415-23.
35. Amor-Coarasa A, Milera A, Carvajal D, Gulec S, McGoron AJ. Lyophilized Kit for the Preparation of the PET Perfusion Agent [(68)Ga]-MAA. *International journal of molecular imaging*. 2014;2014:269365.
36. Wagner SJ, Welch MJ. Gallium-68 labeling of albumin and albumin microspheres. *Journal of nuclear medicine : official publication, Society of Nuclear Medicine*. 1979;20(5):428-33.
37. Chandra R, Shamoun J, Braunstein P, DuHov OL. Clinical evaluation of an instant kit for preparation of 99mTc-MAA for lung scanning. *Journal of nuclear medicine : official publication, Society of Nuclear Medicine*. 1973;14(9):702-5.
38. Malone LA, Malone JF, Ennis JT. Kinetics of technetium 99m labelled macroaggregated albumin in humans. *The British journal of radiology*. 1983;56(662):109-12.
39. Robbins PJ, Feller PA, Nishiyama H. Evaluation and dosimetry of a 99mTc-Sn-MAA lung imaging agent in humans. *Health physics*. 1976;30(2):173-8.
40. Hnatowich DJ, Schlegel P. Albumin microspheres labeled with Ga-67 by chelation: concise communication. *Journal of nuclear medicine : official publication, Society of Nuclear Medicine*. 1981;22(7):623-6.
41. Hnatowich DJ. Labeling of tin-soaked albumin microspheres with 68Ga. *Journal of nuclear medicine : official publication, Society of Nuclear Medicine*. 1976;17(1):57-60.
42. Maziere B, Loc'h C, Steinling M, Comar D. Stable labelling of serum albumin microspheres with gallium-68. *International journal of radiation applications and instrumentation Part A, Applied radiation and isotopes*. 1986;37(4):360-1.

43. Mathias CJ, Green MA. A convenient route to [68Ga]Ga-MAA for use as a particulate PET perfusion tracer. *Applied radiation and isotopes : including data, instrumentation and methods for use in agriculture, industry and medicine*. 2008;66(12):1910-2.
44. Even GA, Green MA. Gallium-68-labeled macroaggregated human serum albumin, 68Ga-MAA. *International journal of radiation applications and instrumentation Part B, Nuclear medicine and biology*. 1989;16(3):319-21.
45. Maus S, Buchholz HG, Ament S, Brochhausen C, Bausbacher N, Schreckenberger M. Labelling of commercially available human serum albumin kits with 68Ga as surrogates for 99mTc-MAA microspheres. *Applied radiation and isotopes : including data, instrumentation and methods for use in agriculture, industry and medicine*. 2011;69(1):171-5.
46. Ament SJ, Maus S, Reber H, Buchholz HG, Bausbacher N, Brochhausen C, et al. PET lung ventilation/perfusion imaging using (68)Ga aerosol (Galligas) and (68)Ga-labeled macroaggregated albumin. *Recent results in cancer research Fortschritte der Krebsforschung Progres dans les recherches sur le cancer*. 2013;194:395-423.
47. Mueller D, Kulkarni H, Baum RP, Odparlik A. Rapid Synthesis of (68)Ga-labeled macroaggregated human serum albumin (MAA) for routine application in perfusion imaging using PET/CT. *Applied radiation and isotopes : including data, instrumentation and methods for use in agriculture, industry and medicine*. 2017;122:72-7.
48. Persico MG, Marengo M, De Matteis G, Manfrinato G, Cavenaghi G, Sgarella A, et al. 99mTc-68Ga-ICG-Labelled Macroaggregates and Nanocolloids of Human Serum Albumin: Synthesis Procedures of a Trimodal Imaging Agent Using Commercial Kits. *Contrast media & molecular imaging*. 2020;2020:11.
49. Gültekin A, Cayir MC, Ugur A, Bir F, Yüksel D. Detection of Pulmonary Embolism with Gallium-68 Macroaggregated Albumin Perfusion PET/CT: An Experimental Study in Rabbits. *Contrast media & molecular imaging*. 2020:8.
50. Ayse U, Aziz G, Dogangun Y. High-Efficiency Cationic Labeling Algorithm of Macroaggregated Albumin with (68)Gallium. *Nuclear medicine and molecular imaging*. 2021;55(2):79-85.
51. Velikyán I. 68Ga-Based radiopharmaceuticals: production and application relationship. *Molecules*. 2015;20(7):12913-43.
52. Zhernosekov KP, Filosofov DV, Baum RP, Aschoff P, Bihl H, Razbash AA, et al. Processing of generator-produced 68Ga for medical application. *Journal of nuclear medicine : official publication, Society of Nuclear Medicine*. 2007;48(10):1741-8.
53. Marengo M, Canziani L, De Matteis G, Cavenaghi G, Aprile C, Lodola L. Chemical and Physical Characterisation of Human Serum Albumin Nanocolloids: Kinetics, Strength and Specificity of Bonds with (99m)Tc and (68)Ga. *Nanomaterials*. 2021;11(7).
54. Harris WR, Pecoraro VL. Thermodynamic binding constants for gallium transferrin. *Biochemistry*. 1983;22(2):292-9.
55. Kotzerke J, Andreeff M, Wunderlich G, Wiggermann P, Zophel K. [Ventilation-perfusion-lungscintigraphy using PET and 68Ga-labeled radiopharmaceuticals]. *Nuklearmedizin Nuclear medicine*. 2010;49(6):203-8.
56. Lemb M, Oei TH, Eifert H, Gunther B. Technegas: a study of particle structure, size and distribution. *European journal of nuclear medicine*. 1993;20(7):576-9.
57. Senden TJ, Mook KH, Gerald JF, Burch WM, Browitt RJ, Ling CD, et al. The physical and chemical nature of technegas. *Journal of nuclear medicine : official publication, Society of Nuclear Medicine*. 1997;38(8):1327-33.
58. Möller W, Felten K, Seitz J, Sommerer K, Takenata S, Wiebert P, et al. A generator for the production of radiolabelled ultrafine carbonaceous particles for deposition and clearance studies in the respiratory tract. *Journal of Aerosol Science*. 2006;37:631-44.
59. Pourchez J, Albuquerque-Silva IMD, Cottier M, Clotagatide A, Vecellio L, Durand M, et al. Generation and characterization of radiolabelled nanosized carbonaceous aerosols for human inhalation studies. *Journal of Aerosol Science*. 2013;55:1-11

60. Burch WM, Sullivan PJ, McLaren CJ. Technegas--a new ventilation agent for lung scanning. *Nuclear medicine communications*. 1986;7(12):865-71.
61. Mackey DW, Burch WM, Dance IG, Fisher KJ, Willett GD. The observation of fullerenes in a Technegas lung ventilation unit. *Nuclear medicine communications*. 1994;15(6):430-4.
62. Kroto HW, Heath JR, O'Brien SC, Curl RF, Smalley RE. C60: Buckminster fullerene. *Nature*. 1985;318:2.
63. Lloyd JJ, Shields RA, Taylor CJ, Lawson RS, James JM, Testra HJ. Technegas and Pertechnegas particle size distribution. *European journal of nuclear medicine*. 1995;22(5):473-6.
64. Sanchez-Crespo A. Lung Scintigraphy in the Assessment of Aerosol Deposition and Clearance. *Seminars in nuclear medicine*. 2019;49(1):47-57.
65. Scalzetti EM, Gagne GM. The transition from technegas to pertechnegas. *Journal of nuclear medicine : official publication, Society of Nuclear Medicine*. 1995;36(2):267-9.
66. Monaghan P, Provan I, Murray C, Mackey DW, Van der Wall H, Walker BM, et al. An improved radionuclide technique for the detection of altered pulmonary permeability. *Journal of nuclear medicine : official publication, Society of Nuclear Medicine*. 1991;32(10):1945-9.
67. Mackey DW, Jackson P, Baker RJ, Dasaklis C, Fisher KJ, Magee M, et al. Physical properties and use of pertechnegas as a ventilation agent. *Journal of nuclear medicine : official publication, Society of Nuclear Medicine*. 1997;38(1):163-7.
68. Fanti S, Compagnone G, Pancaldi D, Franchi R, Corbelli C, Marengo M, et al. Evaluation of lung clearance of inhaled pertechnegas. *Annals of nuclear medicine*. 1996;10(1):147-51.
69. Strong JC, Agnew JE. The particle size distribution of technegas and its influence on regional lung deposition. *Nuclear medicine communications*. 1989;10(6):425-30.
70. Isawa T, Teshima T, Anazawa Y, Miki M, Soni PS. Technegas versus krypton-81m gas as an inhalation agent. Comparison of pulmonary distribution at total lung capacity. *Clinical nuclear medicine*. 1994;19(12):1085-90.
71. Hartmann IJC, Hagen PJ, Stokkel MPM, Hoekstra OS, Prins MH. Technegas Versus 81mKr Ventilation-Perfusion Scintigraphy: A Comparative Study in Patients with Suspected Acute Pulmonary Embolism. *Journal of nuclear medicine : official publication, Society of Nuclear Medicine*. 2001;42:8.
72. Jogi J, Jonson B, Ekberg M, Bajc M. Ventilation-perfusion SPECT with 99mTc-DTPA versus Technegas: a head-to-head study in obstructive and nonobstructive disease. *Journal of nuclear medicine : official publication, Society of Nuclear Medicine*. 2010;51(5):735-41.
73. Isawa T, Teshima T, Anazawa Y, Miki M, Motomiya M. Technegas for inhalation lung imaging. *Nuclear medicine communications*. 1991;12(1):47-55.
74. Agnew JE, Pavia D, Clarke SW. Airways penetration of inhaled radioaerosol: an index to small airways function? *European journal of respiratory diseases*. 1981;62(4):239-55.
75. Nemmar A, Hoet PH, Vanquickenborne B, Dinsdale D, Thomeer M, Hoylaerts MF, et al. Passage of inhaled particles into the blood circulation in humans. *Circulation*. 2002;105(4):411-4.
76. Kotzerke J, Andreeff M, Wunderlich G. PET aerosol lung scintigraphy using Galligas. *European journal of nuclear medicine and molecular imaging*. 2010;37(1):175-7.
77. Borges JB, Velikyan I, Langstrom B, Sorensen J, Ulin J, Maripuu E, et al. Ventilation distribution studies comparing Technegas and "Gallgas" using 68GaCl3 as the label. *Journal of nuclear medicine : official publication, Society of Nuclear Medicine*. 2011;52(2):206-9.
78. Nozaki T, Muraoka T, Hara T, Suzuki T. Production of Fine Aerosols Labelled with Various Radionuclides by Sublimation from a Graphite Boat, and Their Properties and Tracer Use. *Appl Radiat Isot*. 1995;46(3):9.
79. Oehme L, Zophel K, Golgor E, Andreeff M, Wunderlich G, Brogsitter C, et al. Quantitative analysis of regional lung ventilation and perfusion PET with (68)Ga-labelled tracers. *Nuclear medicine communications*. 2014;35(5):501-10.

80. Shanehsazzadeh S, Lahooti A, Yousefnia H, Geramifar P, Jalilian AR. Comparison of estimated human dose of (68)Ga-MAA with (99m)Tc-MAA based on rat data. *Annals of nuclear medicine*. 2015;29(8):745-53.
81. Chiesa C, De Sanctis V, Crippa F, Schiavini M, Fraigola CE, Bogni A, et al. Radiation dose to technicians per nuclear medicine procedure: comparison between technetium-99m, gallium-67, and iodine-131 radiotracers and fluorine-18 fluorodeoxyglucose. *European journal of nuclear medicine*. 1997;24(11):1380-9.
82. Sloboda RS, Schmid MG, Willis CP. Technologist Radiation Exposures from Nuclear Medicine Imaging Procedures. *Journal of nuclear medicine technology*. 1987;15(1):8.
83. Ferrand O, Brouquières G, Puech B, Bussy E. Zonage radiologique d'un service de médecine nucléaire : exemple de l'hôpital d'instruction des armées Sainte-Anne. *Médecine Nucléaire*. 2010;34:11.
84. Brudecki K, Borkowska E, Gorzkiewicz K, Kostkiewicz M, Mroz T. (99m)Tc activity concentrations in room air and resulting internal contamination of medical personnel during ventilation-perfusion lung scans. *Radiation and environmental biophysics*. 2019;58(3):469-75.
85. Dwivedi DK, Snehlata, Dwivedi AK, Lochab SP, Kumar R, Naswa N, et al. Radiation exposure to nuclear medicine personnel handling positron emitters from Ge-68/Ga-68 generator. *Indian journal of nuclear medicine : IJNM : the official journal of the Society of Nuclear Medicine, India*. 2011;26(2):86-90.
86. Benatar NA, Cronin BF, O'Doherty MJ. Radiation dose rates from patients undergoing PET: implications for technologists and waiting areas. *European journal of nuclear medicine*. 2000;27(5):583-9.
87. Guillet B, Quentin P, Waultier S, Bourrelly M, Pisano P, Mundler O. Technologist radiation exposure in routine clinical practice with 18F-FDG PET. *Journal of nuclear medicine technology*. 2005;33(3):175-9.
88. Carvalho TC, Peters JI, Williams RO, 3rd. Influence of particle size on regional lung deposition-what evidence is there? *International journal of pharmaceuticals*. 2011;406(1-2):1-10.
89. Burch WM, Tetley IJ, Gras JL. Technetium-99m 'pseudogas' for diagnostic studies in the lung. *Clinical physics and physiological measurement : an official journal of the Hospital Physicists' Association, Deutsche Gesellschaft für Medizinische Physik and the European Federation of Organisations for Medical Physics*. 1984;5(2):79-85.
90. Saito Y, Yoshikawa T, Okuda M, Fujimoto M. Iron particles nesting in carbon cages grown by arc discharge. *Chemical Physics Letters*. 1993;212:4.
91. Cusnir R, Cakebread A, Cooper MS, Young JD, Blower PJ, Ma MT. The effects of trace metal impurities on Ga-68-radiolabelling with a tris(3-hydroxy-1,6-dimethylpyridin-4-one) (THP) chelator. *RCS Advances*. 2019;9:37214-21.
92. Bailey DL, Farrow CE, Lau EM. V/Q SPECT-Normal Values for Lobar Function and Comparison With CT Volumes. *Seminars in nuclear medicine*. 2019;49(1):58-61.

ANNEXE 1: Fully automated ^{68}Ga -labeling
and purification of macroaggregated
albumin particles for lung perfusion PET
imaging



Fully Automated ^{68}Ga -Labeling and Purification of Macroaggregated Albumin Particles for Lung Perfusion PET Imaging

OPEN ACCESS

Edited by:

Kazuma Ogawa,
Kanazawa University, Japan

Reviewed by:

Sergio Todde,
University of Milano-Bicocca, Italy
Yoichi Shimizu,
Kyoto University, Japan

*Correspondence:

Frédérique Blanc-Béguin
frederique.blanc@chu-brest.fr
Pierre-Yves Le Roux
pierre-yves.leroux@chu-brest.fr

†ORCID:

Frédérique Blanc-Béguin
orcid.org/0000-0002-0462-4246
Pierre-Yves Le Roux
orcid.org/0000-0002-8534-8203
Pierre-Yves Salaün
orcid.org/0000-0002-3899-2135
Raphaël Tripiet
orcid.org/0000-0001-9364-788X
Philippe Robin
orcid.org/0000-0001-5521-9454
Virginie Cogulet
orcid.org/0000-0002-6934-275X

Specialty section:

This article was submitted to
Radiopharmacy and Radiochemistry,
a section of the journal
Frontiers in Nuclear Medicine

Received: 16 September 2021

Accepted: 04 October 2021

Published: 18 November 2021

Citation:

Blanc-Béguin F, Masset J, Robin P,
Tripiet R, Hennebicq S, Guilloux V,
Vriamont C, Warnier C, Cogulet V,
Eu P, Salaün P-Y and Le Roux P-Y
(2021) Fully Automated ^{68}Ga -Labeling
and Purification of Macroaggregated
Albumin Particles for Lung Perfusion
PET Imaging.
Front. Nucl. Med. 1:778191.
doi: 10.3389/fnume.2021.778191

Frédérique Blanc-Béguin^{1†}, Julien Masset², Philippe Robin^{1†}, Raphaël Tripiet^{3†},
Simon Hennebicq¹, Valérie Guilloux^{4,5}, Charles Vriamont², Corentin Warnier²,
Virginie Cogulet^{6†}, Peter Eu⁷, Pierre-Yves Salaün^{1†} and Pierre-Yves Le Roux^{1†*}

¹ Medecine Nucleaire, CHRU Brest, EA3878 (GETBO) IFR 148, Univ Brest, Brest, France, ² Trasis Radiopharmacy Instruments, Ans, Belgium, ³ Univ Brest UMR-CNRS 6521 (CEMCA), IFR 148, Brest, France, ⁴ Medecine Nucleaire, CHRU Brest, Brest, France, ⁵ Univ Brest, EA3878 (GETBO), INSERM 1078, Brest, France, ⁶ Pharmacie, CHRU Brest, INSERM 1078, Brest, France, ⁷ Cancer Imaging, Peter MacCallum Cancer Centre, Melbourne, VIC, Australia

Lung PET/CT is a promising imaging modality for regional lung function assessment. Our aim was to develop and validate a fast, simple, and fully automated GMP compliant [^{68}Ga]Ga-MAA labeling procedure, using a commercially available [$^{99\text{m}}\text{Tc}$]Tc-MAA kit, a direct gallium-68 eluate and including a purification of the [^{68}Ga]Ga-MAA.

Method: The synthesis parameters (pH, heating temperature) were manually determined. Automated ^{68}Ga -labeling of MAA was then developed on a miniAIO (Trasis®, Ans, Belgium) module. An innovative automated process was developed for the purification. The process was then optimized and adapted to automate both the [^{68}Ga]Ga-MAA synthesis and the isolation of gallium-68 eluate required for the pulmonary ventilation PET/CT.

Results: The 15-min process demonstrated high reliability and reproducibility, with high synthesis yield (>95 %). Mean [^{68}Ga]Ga-MAA radiochemical purity was 99 % \pm 0.6 %. The ^{68}Ga -labeled MAA particles size and morphology remained unchanged.

Conclusion: A fast, user friendly, and fully automated process to produce GMP [^{68}Ga]Ga-MAA for clinical use was developed. This automated process combining the advantages of using a non-modified MAA commercial kit, a gallium-68 eluate without pre-purification and an efficient final purification of the [^{68}Ga]Ga-MAA may facilitate the implementation of lung PET/CT imaging in nuclear medicine departments.

Keywords: [^{68}Ga]Ga-MAA, gallium-68, automated synthesis, automated purification, perfusion PET/CT

INTRODUCTION

Ventilation-perfusion (V/Q) PET/CT (Positron Emission Tomography/Computed Tomography) is a promising imaging modality for regional lung function assessment. The same carrier molecules as conventional V/Q scan are used (i.e., carbon nanoparticles for ventilation and macro aggregated albumin (MAA) for perfusion), but they are labeled with gallium-68 instead of technetium-99m (1). Thereby, V/Q PET/CT and V/Q SPECT/CT imaging assesses similar physiological processes,

but with the technical advantages of PET over conventional SPECT imaging, including higher sensitivity, spatial and temporal resolution, and speed of acquisition (2, 3). The transition from SPECT to PET technology showed promising results in a variety of pulmonary diseases, including pulmonary embolism diagnosis (4, 5), assessment of pulmonary reserve in lung cancer patients before surgery (6), radiotherapy planning to maximize dose to the tumor while minimizing the dose to the surrounding lungs (7–10), or surgical evaluation of patients undergoing lung volume reduction surgery (11). Other advantages of PET imaging include the reduction of the acquisition time (~2–3 min) and a greater access to respiratory gated acquisition (1). Furthermore, the use of gallium-68 could be a suitable alternative to prevent production delays due to $^{99}\text{Mo}/^{99\text{m}}\text{Tc}$ generator shortage (12).

While ^{68}Ga -labeled carbon nanoparticles production can be readily performed using an unmodified commercially available Technegas generator (Cyclopharm Ltd., Australia) (13), the radiolabeling of the MAA is logistically less straightforward with gallium-68 as compared with technetium-99m. Indeed, the $^{99}\text{Mo}/^{99\text{m}}\text{Tc}$ generator is eluted with 0.9% NaCl whereas the $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ generator is eluted with HCl which is not suitable for intravenous perfusion. Moreover, the gallium-68 eluate contains free metal impurities and germanium-68 breakthrough. Therefore, the ^{68}Ga]Ga-MAA needs to be purified prior to injection. Several radiolabeling processes have been proposed, with various options in the key stages of the process (the source of MAA, pre-purification of the gallium-68 eluate, purification of the final product). First, most groups used MAA included in commercial MAA kits for technetium-99m, which has the advantage of simplicity and availability (14–16). Other groups performed a centrifugation stage to eliminate free albumin from the kits (5, 12, 17–20). Second, some groups performed a pre-purification of the gallium-68 eluate to improve the radiolabeling yield (5, 15, 16). Third, a critical stage is the purification of the ^{68}Ga]Ga-MAA at the end of the synthesis to separate ^{68}Ga]Ga-MAA from any other chemicals, including free gallium-68. In that respect, the use of sep-Pak C18 cartridge (17) or centrifugation (12, 18, 20) was tested. The main drawbacks of these processes are that they are time consuming, increase the radiation dose for the operators, and increase the risk of bacterial contamination. Moreover, the radiolabeling yields are reduced with the use of sep-Pak C18 cartridge (17) and the centrifugation is not prone to automation. Finally, most groups proposed a manual process of MAA labeling with gallium-68 (5, 12, 16–20). The automation of the labeling procedures is of high interest to minimize the operator's radiation exposure, decrease the procedure time, and limit the human errors.

For these considerations, and to expedite the implementation of lung perfusion PET/CT imaging in nuclear medicine departments, the development of a simple, rapid, and fully automated process for ^{68}Ga -labeling of macroaggregated albumin particles would be of great interest. Automation with the use of disposable cassettes should maximize the pharmaceutical product quality, minimize potential cross-contaminations, reduce operator radiation dose, and avoid time-consuming cleaning procedures. To ensure patient's safety, the labeling

procedure should be compliant with Good Manufacturing Practices (GMP). Moreover, a few milliliters of gallium-68 eluate could be isolated during the MAA labeling process for the ^{68}Ga -labeling of carbon nanoparticles for ventilation PET imaging. Finally, the process should demonstrate reliability and reproducibility.

Our aim was to develop and validate a user friendly and fully automated GMP compliant ^{68}Ga]Ga-MAA labeling procedure, from an unmodified commercially available $^{99\text{m}}\text{Tc}$]Tc-MAA kit and a direct gallium-68 eluate, including an efficient final purification of the ^{68}Ga]Ga-MAA.

MATERIALS AND METHODS

General

For the labeling procedure, the reagents and solvents were of the highest grade and were used without further purification. Ultrapur 0.1N HCl for generator elution was purchased from Eckert & Ziegler Radiopharma GmbH (Berlin, Germany). The sodium acetate solutions were prepared from EMSURE[®] ACS anhydrous sodium acetate and EMSURE[®] water for analysis, both purchased from Merck KGaA (Darmstadt, Germany).

The sodium acetate solutions were prepared and sterilized on a 0.22- μm pore size filter, in a class II biological safety cabinet. Macoflex[®] isotonic 0.9% NaCl was purchased from MacoPharma (Tourcoing, France). The commercial $^{99\text{m}}\text{Tc}$]Tc-MAA kits (Pulmocis[®]) were purchased from CIS Bio International (CURIUM, Saclay, France). The commercial kits contained a sterile, nonpyrogenic, lyophilized mixture of 2.0 mg of macroaggregated albumin, human albumin, stannous chloride ($\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), and sodium chloride. The gallium-68 was obtained as ^{68}Ga]Ga-chloride from a 1.85 GBq commercially available TiO_2 based $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ generator (GalliaPharm[®]), produced by Eckert & Ziegler Radiopharma GmbH (Berlin, Germany) under GMP and distributed by CycloPharma (CURIUM, S^t Beuzire, France).

For the radiochemical purity control, a 0.1 M sodium citrate solution was prepared from distilled water and sodium citrate anhydrous purchased from Honeywell FlukaTM and distributed by Fisher Scientific (Illkirch, France).

Manual Procedure: Determination of Synthesis Parameters

Based on previously published data (5, 12, 16–18), four pH values (3.8, 4.3, 4.8, 5.3) and four heating temperatures (50, 60, 70, and 80°C) were tested. The commercial MAA kits were manually suspended either in 2.0 mL of 0.31 M, 0.35 M, 0.39 M, or 0.43 M sodium acetate solution to obtain a reaction mixture with pH of 3.8, 4.3, 4.8, and 5.3, respectively. Then 5 mL of 0.1 N HCl were introduced in the vials. The reaction mixture pH was measured with a pH meter (HANNA Instruments, Lingo Tanneries, France). Each reaction vial was heated in a heat block for 15 min at each temperature mentioned above. At the end of the heating stage, the organoleptic properties of each suspension were visually analyzed.

Automated Procedure Description Synthesis Parameters Validation With Automated Procedure and Purification Stage Optimization

To perform the automated process, a disposable cassette was used on a miniAIO[®] (Trasis, Ans, Belgium) placed in a hot cell equipped with vertical laminar flow to ensure the preparation's safety according to the GMP. The software Trasis Supervision[®]

(Trasis, Ans, Belgium) was used to program the automated reagent's transfers to label the MAA.

The commercial MAA kit was manually suspended in 2.0 mL of sodium acetate solution. Then the vial was placed on the cassette position number 4 (Figure 1). The first stage of the automated procedure was the transfer of the suspended MAA from the commercial vial to the reactor. Then, the $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$

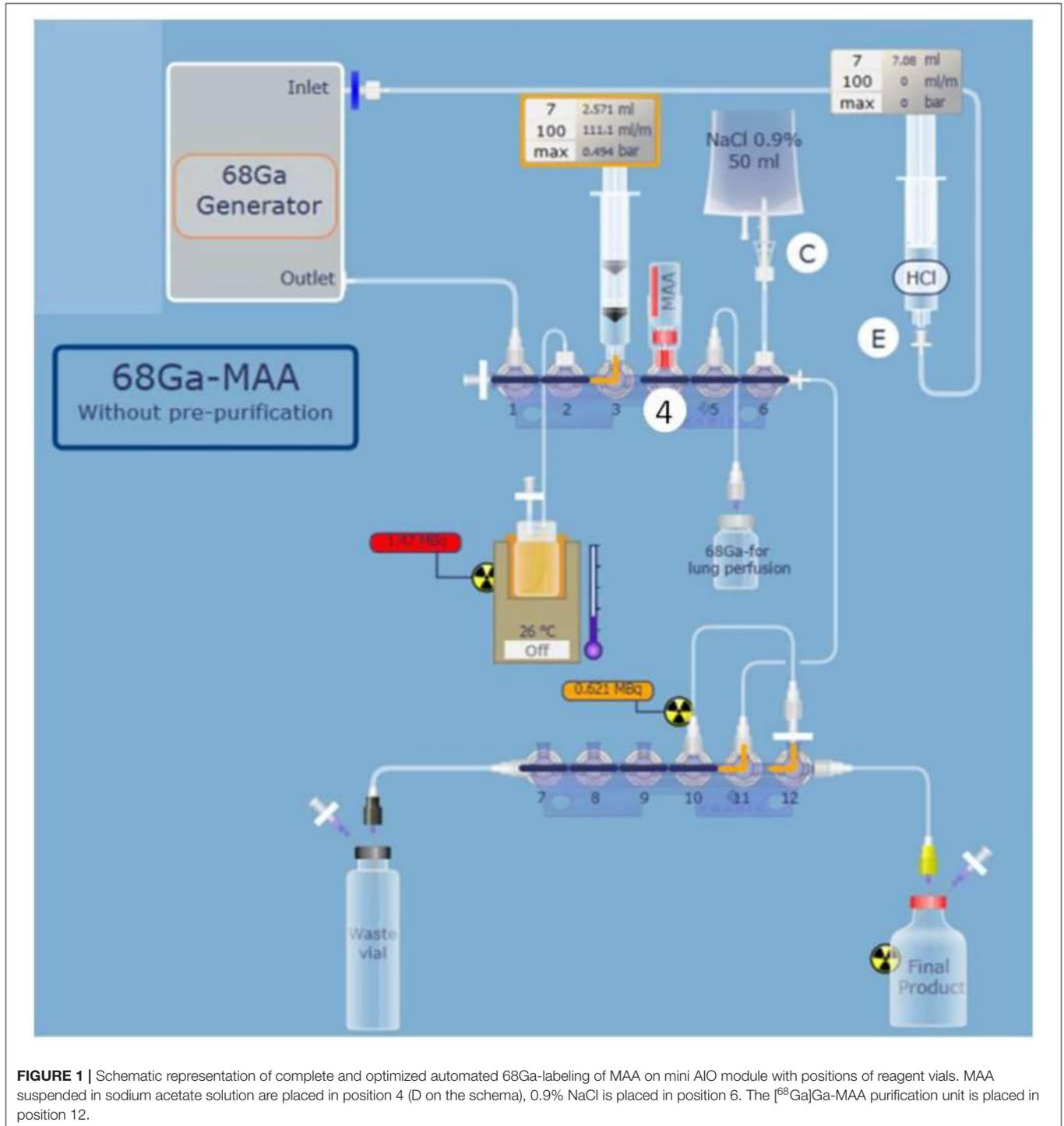


FIGURE 1 | Schematic representation of complete and optimized automated ^{68}Ga -labeling of MAA on mini AIO module with positions of reagent vials. MAA suspended in sodium acetate solution are placed in position 4 (D on the schema), 0.9% NaCl is placed in position 6. The $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-MAA}$ purification unit is placed in position 12.

generator was eluted with 5 mL of 0.1 N HCl and the eluate was added to the reactor. The generator was eluted 24 h prior to the labeling procedure to eliminate zinc-68, which can affect the yield. The final volume of the reaction mixture was approximately 7 mL. The reactor was heated for 15 min. At the end of the heating stage, the product was diluted to 9 mL with 0.9% NaCl. To validate the synthesis parameters manually determined, radiolabeling yields and radiochemical purity controls were performed on three syntheses without purification stage. Indeed, the labeling parameters and the purification stage both influence the synthesis yield. So, in order to evaluate the purification stage efficiency by using the synthesis yield, the labeling parameters had to be validated first without purification.

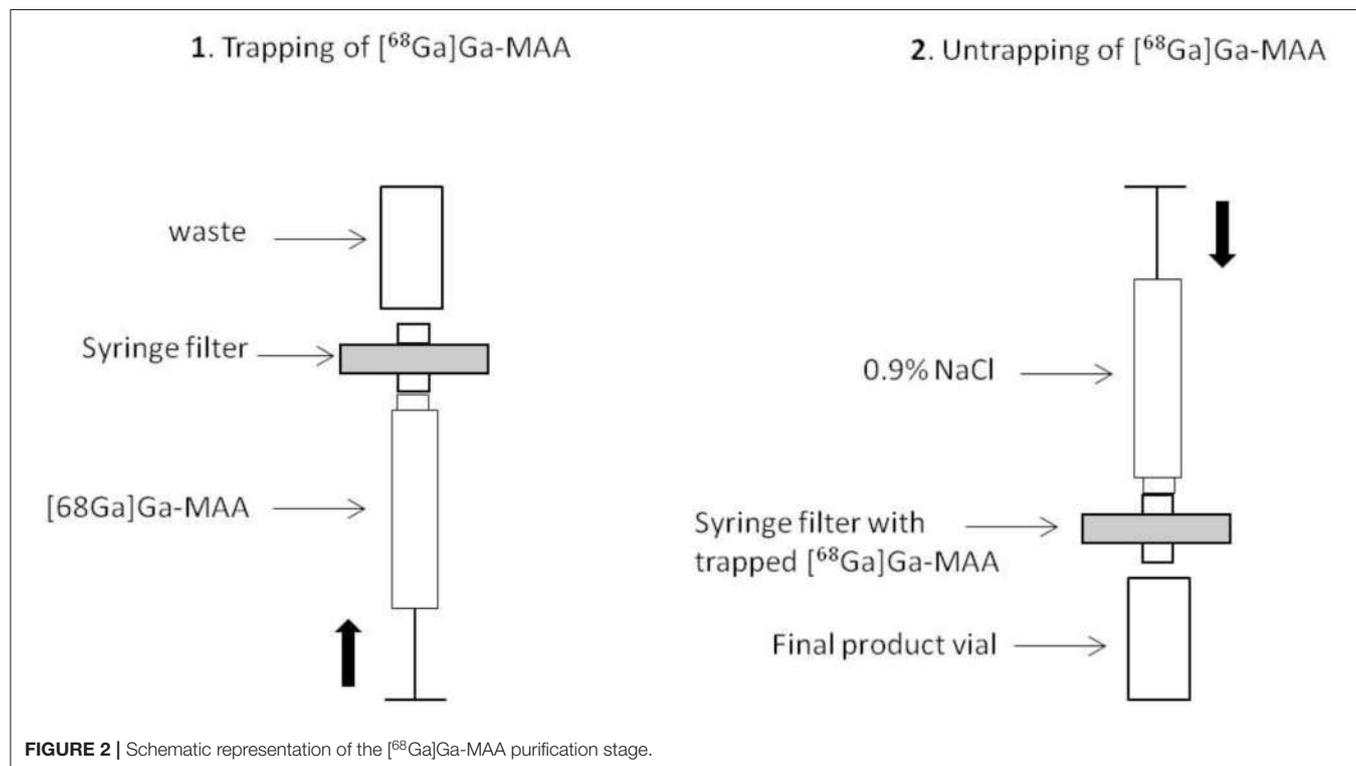
A novel procedure was tested for the purification step. The final suspension was passed through a low protein binding filter to purify the obtained ^{68}Ga]Ga-MAA. Various types of filters were tested to optimize the purification stage: a 5- μm pore size filter, a 0.45- μm pore size filter, a 0.22- μm pore size double membrane filter, and a 0.22- μm pore size ventilated filter. In order to improve the release of ^{68}Ga]Ga-MAA from the filter, the suspension was passed through the filter from the bottom to the top with as little air as possible. Then, the ^{68}Ga]Ga-MAA was removed from the filter and transferred into the final vial by passing 10 mL of 0.9% NaCl from the top to the bottom of the filter (Figure 2). For each filter tested, the release yield of ^{68}Ga]Ga-MAA from the filter was assessed as follows: radioactivity of the filter/(final ^{68}Ga]Ga-MAA suspension radioactivity + radioactivity of the filter).

Automated Procedure Optimization for Clinical Use

Once the synthesis parameters were determined, the automated synthesis process was adjusted to isolate 2 mL of gallium-68 for carbon nanoparticles labeling (ventilation PET imaging) and to use the remaining 3 mL of gallium-68 eluate for the MAA labeling. For this purpose, the molarity of the sodium acetate solution was adjusted to respect the reaction media pH validated before. The commercial MAA kit was manually suspended in 2.0 mL of the sodium acetate solution and connected on the cassette position number 4. Then, the automated process was performed as follows: first, the MAA suspension was transferred into the reaction vial. Then, the $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ generator was eluted with 5 mL of 0.1 M HCl while the eluate was collected in the syringe placed on the cassette position number 3 (Figure 1). When the 5 mL of eluate were contained in the syringe, 2 mL were transferred in an independent vial for carbon nanoparticles labeling and 3 mL of gallium-68 eluate were introduced in the reaction vial which already contained the MAA suspension. The reaction vial was heated at 60°C to label the MAA. To improve the labeling yield by saving time and reducing the loss of activity due to radioactivity decay, three heating times were tested (15, 10, and 5 min). Labeling times tested were selected given the previously published data (5, 12, 16–18). The choice of the reactor heating time was based on syntheses yield, ^{68}Ga]Ga-MAA suspension's radiochemical purity, and the percentage of particles inferior to 3 μm results obtained with the three times tested.

Validation of the Process for Clinical Use

The validation of the labeling procedure for clinical use was performed by evaluating the reliability and reproducibility of the



process, followed by quality controls on the obtained $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-MAA}$ suspensions.

To assess the reliability and reproducibility of the process, an automated procedure for clinical use was performed twice in triplicate. The $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ generator and the sodium acetate solution were changed between the two triplicates. Calculation of yields was based on the amount of radioactivity in the gallium-68 eluate at the start of the process and in the product obtained at the end of the process (with or without $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-MAA}$ purification stage). At the end of the process, the purification step efficiency was assessed by determining the percentage of radioactivity remaining on the purification filter.

$[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-MAA}$ suspensions were tested according to standards applied for clinical use [i.e., EU Pharmacopeia monograph for $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-radiopharmaceuticals}$ and $[^{99\text{m}}\text{Tc}]\text{Tc-macroaggregated albumin}$] to validate the final process for clinical production ($n = 6$).

The radiochemical purity of $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-MAA}$ suspension was assayed using instant thin-layer chromatography (iTLC) on iTLC-SG glass fiber sheets from PALL Life Sciences (Port Washington, NY) recorded with Gina Star TLC and analyzed using miniGita software from Raytest (Straubenhardt, Germany)

and distributed by Elysia (Angleur, Belgium). The percentages of each fraction were determined relative to the total activity of the chromatogram (Figure 3). A 0.1 M sodium citrate solution at pH 5 was the mobile phase.

The radioactivity distribution was determined by filtration of the $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-MAA}$ suspension through a 3- μm pore size Whatman[®] Nuclepore[™] track-Etched polycarbonate membrane (Merck GaA, Darmstadt, Germany). The filter and filtrate radioactivity were measured using a 3" \times 3" NaI(Tl) pinhole gamma counter (Canberra, Montigny-Le-Bretonneux, France).

The radionuclidic purity determination was performed after gallium-68 decay (at least 48 h) using a 3" \times 3" NaI(Tl) pinhole gamma counter (Canberra, Montigny-Le-Bretonneux, France) in order to quantify germanium-68 percentage.

The pH of the $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-MAA}$ suspension was controlled using pH test paper. The sterility and endotoxins level of the product were investigated by the hygiene department of Brest University Hospital after gallium-68 decay. According to the monograph 20,601 of pharmacopeia (9th edition), the sterility of the final product was tested by inoculating 9.5 mL of trypticase soy broth and 9.5 mL of thioglycolate broth with 0.5 mL of

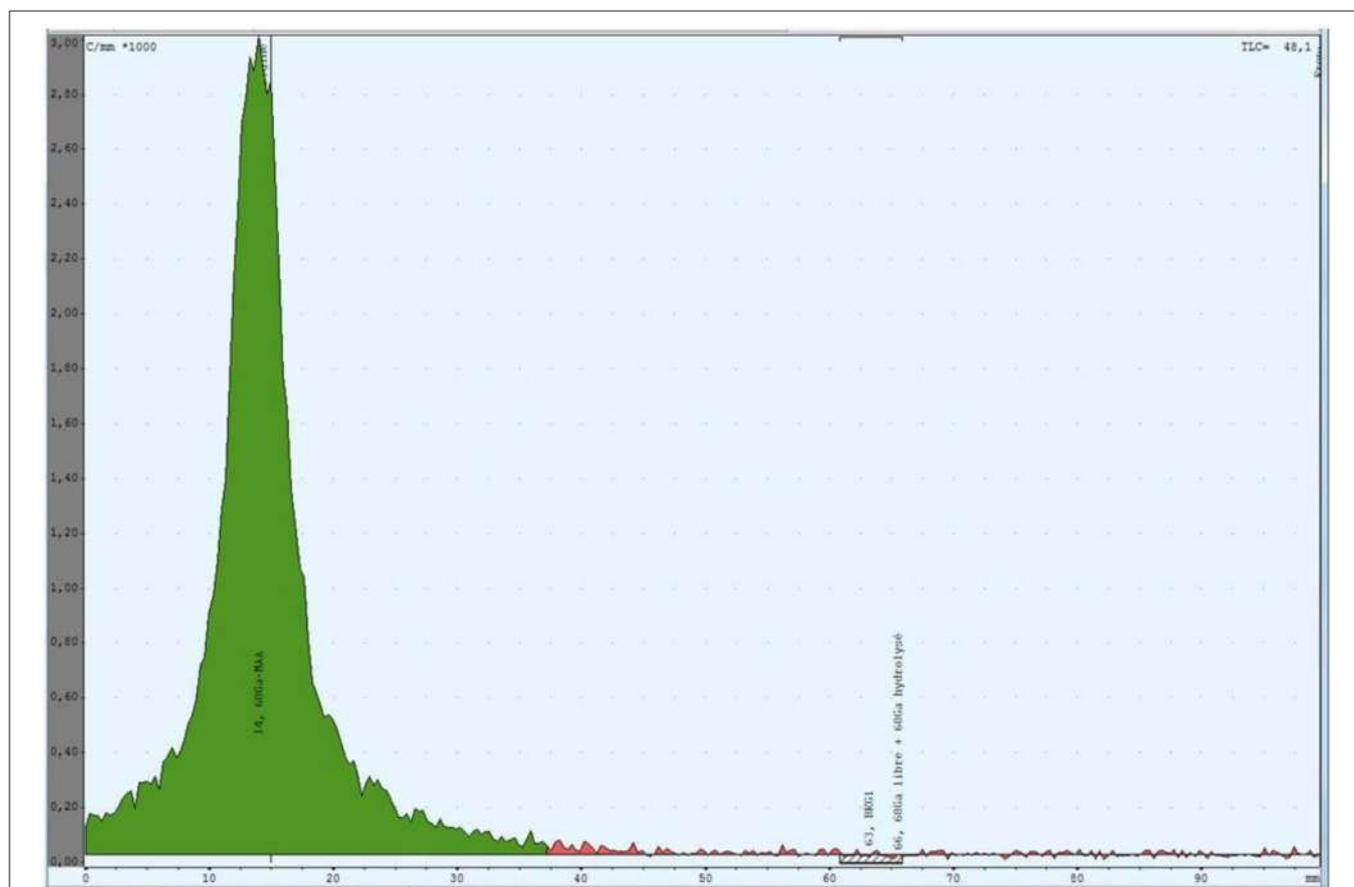


FIGURE 3 | Thin layer chromatography of $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-MAA}$ suspension produced with the process for clinical use. The green region is the radioactivity due to the $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-MAA}$.

[⁶⁸Ga]Ga-MAA suspension each. Both broths were incubated 14 days at 22 and 30°C, respectively.

The endotoxins level was assessed using the Endosafe[®]-Nexgen PTS (Charles River, Ecully, France) colorimetric technique.

[⁶⁸Ga]Ga-MAA *in vitro* stability was controlled by the determination of the radiochemical purity and the radioactive distribution 3 h (= T3h) after the end of the labeling process and were compared with the values at T0.

Labeled MAA Integrity at the End of the Labeling

To investigate the MAA integrity at the end of the labeling procedure, the size and morphology of labeled-MAA were studied.

The size was measured using an optical microscope Leica DM 1,000 LED (Leica Microsystems SAS, Nanterre, France) and a hemacytometer (Ozyme, St Quentin-en-Yvelines, France). Three samples were investigated and compared with the applied standards for clinical use (i.e., EU Pharmacopeia monograph for [^{99m}Tc]Tc-macroaggregated albumin).

The morphology was investigated on MAA labeled with natural gallium-69 (0.018 nmol of ⁶⁹Ga in 5 mL of 0.1 N HCl) instead of gallium-68. The morphology of [⁶⁹Ga]Ga MAA was examined using a HITACHI S-3200N SEM (HITACHI, Tokyo, Japan) and was compared with the MAA morphology of the commercial kit suspended in 0.9% NaCl.

Labeled MAA Suspension Tin Quantity

The tin dosage was performed on four [⁶⁸Ga]Ga-MAA samples produced with the automated process for clinical use. The objective was to evaluate the purification step impact on removing tin from the final [⁶⁸Ga]Ga-MAA suspension. The [⁶⁸Ga]Ga-MAA samples were transferred in cleaned metal-free Teflon beakers. The weight of each sample was measured. The samples were acidified with 2 mL of 14 N ultrapure nitric acid and heated at 100°C for 24 h to proceed with the mineralization. Then samples were evaporated to dryness and suspended in 5 mL of 6 N HCl to constitute stock solutions.

Tin concentrations were measured using high resolution inductively coupled plasma mass spectrometry (HR-ICP-MS, Element XR, Thermofisher Scientific) located at Pôle de Spectrométrie Océan (PSO, Brest, IUEM, France). Five milliliters of the stock solutions were weighted and diluted with 10 mL of 2.5% nitric acid containing an internal standard (Indium at 1 ppb). Concentrations of the samples were calibrated using external calibration standards and a procedural blank was analyzed with the samples and was below the detection limit (<0.002 ppb).

RESULTS

Manual Procedure: Determination of Synthesis Parameters

Organoleptic properties of MAA suspensions according to the heating temperature and the reaction media pH are shown in **Table 1**. At a pH of 3.8, the reaction mixture could be heated

TABLE 1 | Organoleptic properties of MAA suspensions according to heating temperature and reaction media pH.

Heating temperature (°C)	Suspension organoleptic properties			
	pH = 3.8	pH = 4.3	pH = 4.8	pH = 5.3
80	White suspension without sedimentation	Fast sedimentation	Fast sedimentation	Fast sedimentation
70	White suspension without sedimentation	White suspension without sedimentation	White suspension without sedimentation	Suspended filaments
60	White suspension without sedimentation	White suspension without sedimentation	White suspension without sedimentation	Suspended filaments
50	White suspension without sedimentation			

The commercial MAA kits were suspended in 5 mL of 0.1 N HCl and 2 mL of sodium acetate solution of various molarity (0.31 M for pH = 3.8, 0.35 M for pH = 4.3, 0.39 M for pH = 4.8, 0.43 M for pH = 5.3). All suspensions were heated for 15 min.

15 min from 50 to 80°C while conserving a white suspension without aggregation. At pH of 4.3 and 4.8, the organoleptic properties of the reaction mixture were maintained at all temperatures but 80°C. With a pH of 5.3, suspended filaments were observed in the suspension at 60°C and above. Based on these results, the selected parameters were the following: a pH set at 4.3 for the reaction mixture and a labeling temperature of 60°C.

Automated Procedure Description Synthesis Parameters Validation With Automated Procedure and Purification Stage Optimization

Mean decay-corrected [⁶⁸Ga]Ga-MAA radiolabeling yields obtained with the automated procedure without purification stage were $87.3 \pm 2.08\%$ (see **Supplementary Table 1**). Mean [⁶⁸Ga]Ga-MAA radiochemical purity was $97.8\% \pm 2.0\%$ (see **Table 2**).

Various filters for the purification stage were then tested. **Table 3** shows the synthesis yield and MAA release percentage at the end of the synthesis with those filters. Out of the four types of filters tested, the 0.22- μ m pore size ventilated filter provided the best MAA release percentage (99.5%) and the best decay-corrected synthesis yield (71%). The 0.22- μ m pore size ventilated filter was therefore chosen for the purification stage.

Automated Procedure Optimization for Clinical Use

The automated procedure was then optimized and adapted for clinical use. Results of syntheses performed with three radiolabeling times (5, 10, and 15 min) are shown in **Table 4**. The three durations did not show any significant radiolabeling yield variation. The heating stage was therefore set to 5 min to increase the non-decay-corrected yield. In order to isolate 2 mL of gallium-68 eluate for the ventilation PET study, the

TABLE 2 | Quality control results for three $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-MAA}$ suspensions obtained with the process using 5 mL of gallium-68 eluate and two series of three $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-MAA}$ suspensions obtained with the process using 3 mL of gallium-68 eluate.

	Synthesis number	Radiochemical purity (%) at T0	Particles < 3 μm (%) at T0	Radionuclidic purity (%)	pH	Sterility	Endotoxin's level (IU/mL)	EOS (min)	Initial activity (MBq)	Radioactivity of final product at EOS (MBq)
Synthesis process with 5 mL of $[^{68}\text{Ga}]\text{GaCl}_3$	1	95.5								
	2	99.1								
	3	98.7								
	Mean	97.8								
	Standard deviation	2.0								
Synthesis process with 3 mL of $[^{68}\text{Ga}]\text{GaCl}_3$	1a	100.0	0.9	>99.999	4.4	Sterile	<5	15	692	480
	2a	99.3	1.3	>99.999	4.4	Sterile	<5	15	690	511
	3a	98.4	1.1	>99.999	4.4	Sterile	<5	15	673	503
	1b	98.6	2.2	>99.999	4.4	Sterile	<5	15	895	670
	2b	99.0	0.8	>99.999	4.4	Sterile	<5	15	900	679
	3b	98.8	1.3	>99.999	4.4	Sterile	<5	15	664	488
	Mean	99.0	1.3							
	Standard deviation	0.6	0.5							

Radiochemical purity controls of the products obtained with the first process were performed before the purification stage. The $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ generator and the sodium acetate were changed between the two series (a and b) of three syntheses each (1, 2, 3) produced with the process for clinical use. EOS, end of the synthesis.

TABLE 3 | Radiolabeling yield and MAA release percentage at the end of the synthesis depending on the filter type used for the purification stage.

	Non-vented	Non-vented	Double membrane	Vented
Pore size	5 μm	0.45 μm	0.22 μm	0.22 μm
Filter diameter	25 mm	13 mm	22 mm	22 mm
Radiolabeling yield (%)	52	20	59	71
MAA release (%)	62.4	23	65.5	99.5

process was modified to only use 3 mL of gallium-68 eluate for MAA labeling. To be aligned with the best conditions determined during the manual optimization, 2 mL of 0.2 M sodium acetate solution were used to reconstitute the MAA commercial kit to reach a pH of 4.3. Following this procedure, the automated process of MAA labeling with gallium-68 took 15 min from the beginning of the generator elution to the end of the $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-MAA}$ suspension transfer in the final vial.

Validation of the Process for Clinical use

Mean decay-corrected radiolabeling yields after optimization were $96.0 \pm 1.7\%$ (see **Supplementary Table 1**). The mean percentage of decay-corrected radioactivity remaining on the filter at the end of the purification step was $1.2 \pm 1.2\%$ (see **Supplementary Table 1**).

The results of all the controls performed on the two series of three $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-MAA}$ suspensions are shown in the **Table 2**.

TABLE 4 | Synthesis yields, results of radiochemical purity and percentage of particles inferior to 3 μm obtained with the three tested radiolabeling times (= heating time).

Radiolabeling time in min	Synthesis yield in %	Radiochemical purity (%)	Particles < 3 μm (%)
5	93.5	100	99.7
10	94.3	98.2	95.8
15	93.8	97.5	99.6

Mean $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-MAA}$ radiochemical purity was $99.0 \pm 0.6\%$. Mean percentage of particles smaller than 3 μm was $1.3 \pm 0.8\%$ at the end of the synthesis process. Germanium-68 percentage of each obtained $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-MAA}$ suspension was compliant with the level required in EU Pharmacopeia monograph (i.e., inferior to 0.001% of total radioactivity). The pH of all tested solutions was 4.4. $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-MAA}$ suspensions were sterile and the endotoxin content was below 5 IU/mL (EU Pharmacopeia specifications: <12.5 IU/mL).

Three hours after the end of the synthesis, mean $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-MAA}$ radiochemical purity was $98.9 \pm 1.1\%$, and mean percentage of particles with a size inferior to 3 μm was $1.3 \pm 0.8\%$.

MAA Integrity at the End of the Labeling

The size of MAA from the commercial kit before labeling and the size of $[^{69}\text{Ga}]\text{Ga-MAA}$ produced with the process for clinical use ranged from 15 to 75 μm (see **Supplementary Figure 1**). In all samples tested, 70% or

more MAA size was between 25 and 50 μm . No particles size was superior to 100 μm , in line with EU Pharmacopeia sheets for $[^{99\text{m}}\text{Tc}]\text{Tc-MAA}$.

Visual analysis of SEM images of MAA before labeling and $[^{69}\text{Ga}]\text{Ga-MAA}$ from synthesis with a process for clinical use showed similar MAA morphology (**Figure 4**).

Labeled MAA Suspension Tin Rate

Mean tin total amount in the final product was 0.0232 ± 0.005 mg, as compared with 0.21 mg in the MAA commercial kit before labeling (see **Supplementary Table 2**).

DISCUSSION

We developed a fully automated process to produce GMP $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-MAA}$ for clinical use, using a non-modified MAA commercial kit and a direct gallium-68 eluate. The process includes an innovative automated process for $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-MAA}$ purification, based on the use of a 0.22- μm pore size filter with a passage of the suspension with specific settings. The full process is simple, fast (15 min), and allows isolating the gallium-68 eluate required for the carbon nanoparticles production. The process demonstrated high reliability and reproducibility, with high radiolabeling yield (>95%).

We tested various synthesis parameters based on previously published data, that reported reaction mixture heating temperatures ranging from 50 to 115°C (16, 19), heating times up to 20 min (5, 17), and pH ranging from 4 to 6.5 (5, 17, 19). In this work, out of the four pH tested, three (3.8, 4.3, and 4.8) were able to maintain the organoleptic properties of the MAA between 50 and 70°C. At pH from 4.3 to 5.3, a heating temperature of 80°C or more altered the MAA quality. These data are in line with a study from Amor-Coaraza et al., which showed that a heating stage of 15 min at a temperature superior to 75°C resulted in a higher concentration of small particles in the reaction mixture, which could be explained by

the rupture of large macroaggregates (15, 19). Accordingly, to limit the influence of parameters variation on the labeling yields, we retained intermediate values, i.e., a reaction mixture pH of 4.3 and a heating temperature of 60°C. In order to decrease the synthesis time, three radiolabeling times (= heating times) were tested: 5, 10, and 15 min. Similar mean decay corrected radiochemical yields (93.5% for 5 min, 94.3% for 10 min, and 93.8% for 15 min) and $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-MAA}$ suspensions radiochemical purity (100% for 5 min, 98.2% for 10 min, and 97.5% for 15 min) were found with the three heating stages tested. Accordingly, a 5-min heating stage was maintained for the synthesis process for clinical use.

Our process uses non-washed MAA from a commercially available kit. This is a difference with many groups (5, 12, 17–19) that carried out MAA labeling with washed MAA in order to remove the excess of free albumin to improve the labeling yield. On the other hand, Mueller et al. detected no difference in the labeling efficiency using non-washed MAA as compared with pre-washed MAA (16). In order to simplify the synthesis process, we made the choice to use unmodified MAA kits. This resulted in high decay-corrected radiochemical yields ($96.0 \pm 1.7\%$), which are superior to the radiochemical yields reported with washed MAA, ranging from 78 to 90% (5, 12, 17–19).

Still with the aim to simplify the process, a direct gallium-68 eluate was selected. A pre-purification of the gallium-68 eluate was proposed by several groups to remove the metallic impurities and germanium-68 and improve the labeling yields (5, 12, 21). Amor-Coaraza et al. (19) compared both processes, and reported that the introduction of a gallium-68 pre-purification system improved the labeling yield significantly as compared with a direct use of a gallium-68 eluate ($78.3 \pm 3.1\%$ as compared with $84.1 \pm 3.4\%$). However, without eluate pre-purification, our mean labeling yield was $96.0 \pm 1.7\%$, in line with previous published data (17). Furthermore, the direct use of gallium-68 eluate could have increased the germanium-68 level in the final product. However, our purification process demonstrated very

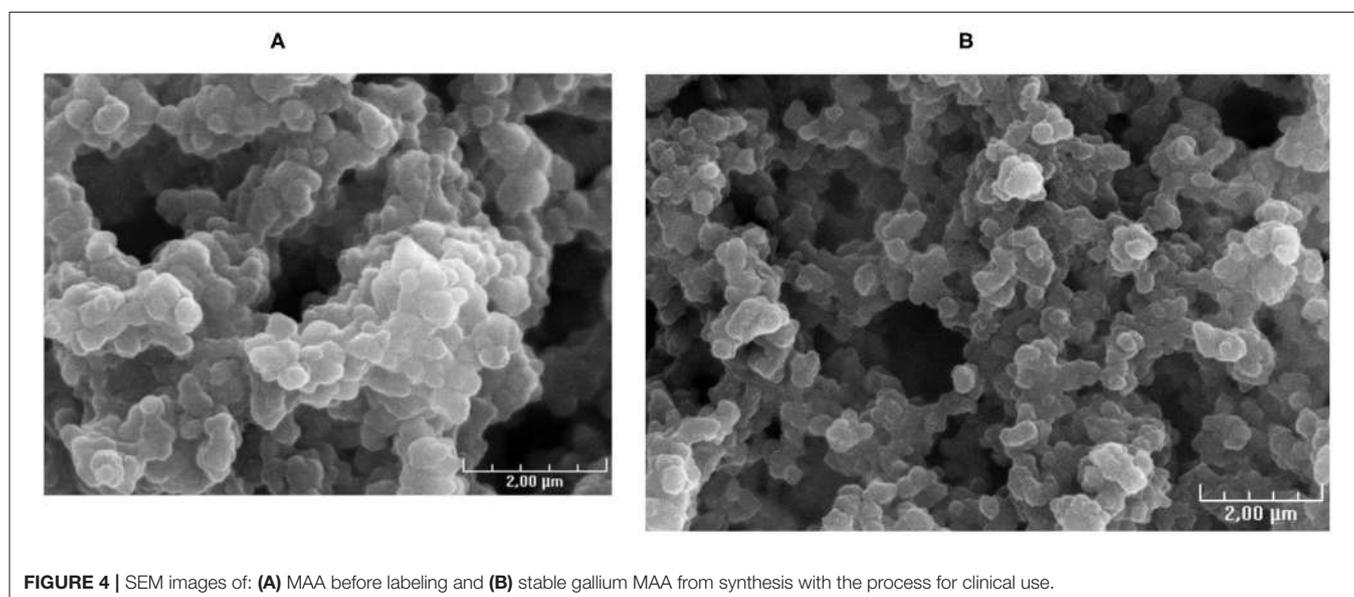


FIGURE 4 | SEM images of: (A) MAA before labeling and (B) stable gallium MAA from synthesis with the process for clinical use.

low germanium-68 levels in our ^{68}Ga]Ga-MAA suspensions (<0.001% of total radioactivity).

The key step of the synthesis, and the innovative point of this work, is the purification process. Maus et al. proposed a manual purification stage, using a Sep Pack C18 cartridge which was washed two times with sterile water to remove ^{68}Ga]Ga-MAA (17). Some teams used a centrifuge to purify the obtained suspension of ^{68}Ga]Ga-MAA (5, 12, 18–20). The purification stage must eliminate the free gallium-68 from the final product. This step is critical because the filter or the column has to be able to trap the ^{68}Ga]Ga-MAA, and in turn, to release the product with a good yield. In this work, we aimed at: (a) passing the synthesized ^{68}Ga]Ga-MAA particles on a syringe filter membrane which membrane composition, diameter, and pore size were chosen so that the ^{68}Ga]Ga-MAA particles are trapped, while impurities from the bulk solution are not retained, said impurities essentially consisting of free metallic impurities, free gallium-68, and stannous chloride present in the MAA commercial kit; (b) untrapping the ^{68}Ga]Ga-MAA particles from the syringe filter using a saline solution passing through the syringe filter in the opposite direction of the trapping movement and providing the final injectable bulk solution into a vial. The gravity is a key factor to improve the release of ^{68}Ga]Ga-MAA from the filter. That is why the suspension was passed from the bottom to the top and vice versa for elution. Better untrapping results were obtained with a vented filter. The reason may be that the use of a vented filter limited the pressure when the ^{68}Ga]Ga-MAA solution passed through the filter. Thus, ^{68}Ga]Ga-MAA was only deposited on the filter and not trapped in the filter. With this process, only a low radioactivity percentage remains on the filter (0.3–3.5%) leading to a high synthesis yield (93–98%). Furthermore, the final product demonstrated high quality with mean radiochemical purity of the ^{68}Ga]Ga-MAA suspensions of $99.0 \pm 0.6\%$. Microscopic examination showed the ^{68}Ga -labeled MAA particles remain within their original size and morphology. The purification stage was also able to decrease by 10 times the tin level in the final product in comparison with the MAA commercial kit. Finally, another advantage of this technique is that it is a fully automated process which reduces the operator's radiation exposure.

A limit of this work is that our process was developed for the use of an Eckert and Ziegler $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ generator. The use of another generator, such as an IRE $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ generator, should be possible, but as the eluate volume may be smaller (1.1 mL with the IRE generator as compared with 5 mL with the Eckert and Ziegler generator), it will not be possible to take out the aliquot for the labeling of carbon nanoparticles and the molarity of the sodium acetate solution should be appropriate to respect the reaction media pH.

What are the clinical implications of our findings? This process offers several advantages to ease the implementation of lung PET/CT imaging in nuclear medicine. The labeling procedure is very simple, GMP compliant, and fully automated. The cassette is directly mounted onto the final product vial without a sterile filter for final sterilization. The process is

reliable and reproducible with very good mean decay-corrected radiochemical yields ($96.0 \pm 1.7\%$). According to the age of the $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ generator, providing a gallium-68 eluate activity ranging from 720 to 360 MBq for 3 mL, the total activity of the final product ranges from 650 to 300 MBq/10 mL, which is largely sufficient to perform multiple perfusion PET/CT scans with only one preparation. Indeed, 50 MBq of ^{68}Ga]Ga-MAA are usually administrated for a V/Q PET/CT scan, and much lower for a perfusion PET/CT scan without ventilation imaging. Furthermore, ^{68}Ga]Ga-MAA suspension was stable *in vitro* at least 3 h after the end of the synthesis.

CONCLUSION

We developed a fully automated process to produce GMP ^{68}Ga]Ga-MAA for clinical use, using a non-modified MAA commercial kit and a direct gallium-68 eluate, and including an innovative automated process for ^{68}Ga]Ga-MAA purification. The full process is simple, fast (15 min), reliable, and reproducible, and allows isolating the gallium-68 eluate required for the ^{68}Ga -labeled carbon nanoparticles production.

This automated process may facilitate the implementation of lung PET/CT imaging in nuclear medicine departments and increase its accessibility to patients with lung disease.

DATA AVAILABILITY STATEMENT

The original contributions presented in the study are included in the article/**Supplementary Material**, further inquiries can be directed to the corresponding authors.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

All authors contributed to the study conception and design. ^{68}Ga]Ga-MAA syntheses and quality controls were performed by FB-B, SH, VG, PE, and JM. The first draft of the manuscript was written by FB-B and P-YL and all authors commented on previous versions of the manuscript. All authors read and approved the final manuscript.

ACKNOWLEDGMENTS

We would like to acknowledge the technologists at the nuclear medicine department of the Brest University Hospital who have enabled this research to occur. We also thank Philippe Eliès from the Services Communs of the University of Brest for SEM images.

SUPPLEMENTARY MATERIAL

The Supplementary Material for this article can be found online at: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fnume.2021.778191/full#supplementary-material>

REFERENCES

- Le Roux PY, Hicks RJ, Siva S, Hofman MS. PET/CT lung ventilation and perfusion scanning using galligas and gallium-68-MAA. *Semin Nucl Med.* (2019) 49:71–81. doi: 10.1053/j.semnuclmed.2018.10.013
- Le Roux PY, Robin P, Salaun PY. New developments and future challenges of nuclear medicine and molecular imaging for pulmonary embolism. *Thromb Res.* (2018) 163:236–41. doi: 10.1016/j.thromres.2017.06.031
- Hicks RJ, Hofman MS. Is there still a role for SPECT-CT in oncology in the PET-CT era? *Nat Rev Clin Oncol.* (2012) 9:712–20. doi: 10.1038/nrclinonc.2012.188
- Le Roux PY, Irvani A, Callahan J, Burbury K, Eu P, Steinfors DP, et al. Independent and incremental value of ventilation/perfusion PET/CT and CT pulmonary angiography for pulmonary embolism diagnosis: results of the PECAN pilot study. *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* (2019) 46:1596–604. doi: 10.1007/s00259-019-04338-z
- Hofman MS, Beauregard JM, Barber TW, Neels OC, Eu P, Hicks RJ. 68Ga PET/CT ventilation-perfusion imaging for pulmonary embolism: a pilot study with comparison to conventional scintigraphy. *J Nucl Med.* (2011) 52:1513–9. doi: 10.2967/jnumed.111.093344
- Le Roux PY, Leong TL, Barnett SA, Hicks RJ, Callahan J, Eu P, et al. Gallium-68 perfusion positron emission tomography/computed tomography to assess pulmonary function in lung cancer patients undergoing surgery. *Cancer Imaging.* (2016) 16:24. doi: 10.1186/s40644-016-0081-5
- Hardcastle N, Hofman MS, Hicks RJ, Callahan J, Kron T, MacManus MP, et al. Accuracy and utility of deformable image registration in (68)Ga 4D PET/CT assessment of pulmonary perfusion changes during and after lung radiation therapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* (2015) 93:196–204. doi: 10.1016/j.ijrobp.2015.05.011
- Siva S, Hardcastle N, Kron T, Bressel M, Callahan J, MacManus MP, et al. Ventilation/perfusion positron emission tomography-based assessment of radiation injury to lung. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* (2015) 93:408–17. doi: 10.1016/j.ijrobp.2015.06.005
- Siva S, Thomas R, Callahan J, Hardcastle N, Pham D, Kron T, et al. High-resolution pulmonary ventilation and perfusion PET/CT allows for functionally adapted intensity modulated radiotherapy in lung cancer. *Radiother Oncol.* (2015) 115:157–62. doi: 10.1016/j.radonc.2015.04.013
- Lucia F, Rehn M, Blanc-Béguin F, Le Roux PY. Radiation therapy planning of thoracic tumors: a review of challenges associated with lung toxicities and potential perspectives of gallium-68 lung PET/CT imaging. *Front Med.* (2021) 8:723748. doi: 10.3389/fmed.2021.723748
- Leong P, Le Roux PY, Callahan J, Siva S, Hofman MS, Steinfors DP. Reduced ventilation-perfusion (V/Q) mismatch following endobronchial valve insertion demonstrated by gallium-68 V/Q photon emission tomography/computed tomography. *Respirol Case Rep.* (2017) 5:e00253. doi: 10.1002/rcr.2.253
- Ament SJ, Maus S, Reber H, Buchholz HG, Bausbacher N, Brochhausen C, et al. PET lung ventilation/perfusion imaging using (68)Ga aerosol (Galligas) and (68)Ga-labeled macroaggregated albumin. *Recent Results Cancer Res.* (2013) 194:395–423. doi: 10.1007/978-3-642-27994-2_22
- Blanc-Béguin F, Elies P, Robin P, et al. ⁶⁸Ga-Labelled Carbon Nanoparticles for Ventilation PET/CT Imaging: Physical Properties Study and Comparison with Technegas®. *Mol Imaging Biol.* (2020) 23:62–9. doi: 10.1007/s11307-020-01532-6
- Bailey DL, Eslick EM, Schembri GP, Roach PJ. (68)Ga PET ventilation and perfusion lung imaging-current status and future challenges. *Semin Nucl Med.* (2016) 46:428–35. doi: 10.1053/j.semnuclmed.2016.04.007
- Persico MG, Marengo M, De Matteis G, Manfrinato G, Cavenaghi G, Sgarella A, et al. ^{99m}Tc-⁶⁸Ga-ICG-Labelled Macroaggregates and Nanocolloids of Human Serum Albumin: Synthesis Procedures of a Trimodal Imaging Agent Using Commercial Kits. *Contrast Media Mol Imaging.* (2020) 2020:11. doi: 10.1155/2020/3629705
- Mueller D, Kulkarni H, Baum RP, Odparlik A. Rapid synthesis of ⁶⁸Ga-labeled macroaggregated human serum albumin (MAA) for routine application in perfusion imaging using PET/CT. *Appl Radiat Isot.* (2017) 122:72–7. doi: 10.1016/j.apradiso.2017.01.003
- Maus S, Buchholz HG, Ament S, Bausbacher N, Schreckenberger M, Brochhausen C. Labelling of commercially available human serum albumin kits with 68Ga as surrogates for ^{99m}Tc-MAA microspheres. *Appl Radiat Isot.* (2011) 69:171–5. doi: 10.1016/j.apradiso.2010.09.008
- Mathias CJ, Green MA. A convenient route to [⁶⁸Ga]Ga-MAA for use as a particulate PET perfusion tracer. *Appl Radiat Isot.* (2008) 66:1910–2. doi: 10.1016/j.apradiso.2008.06.004
- Amor-Coarasa A, Milera A, Carvajal D, Gulec S, McGoron AJ, Lyophilized Kit for the Preparation of the PET Perfusion Agent [(68)Ga]-MAA. *Int J Mol Imaging.* (2014) 2014:269365. doi: 10.1155/2014/269365
- Shanehsazzadeh S, Jalilian AR, Lahooti A, Geramifar P, Beiki D, Yousefnia H, et al. Preclinical Evaluation of ⁶⁸Ga-MAA from Commercial Available ^{99m}Tc-MAA Kit. *Iran J Pharm Res.* (2017) 16:1415–23.
- Ayse U, Aziz G, Dogangun Y. High-Efficiency Cationic Labeling Algorithm of Macroaggregated Albumin with ⁶⁸Gallium. *Nucl Med Mol Imaging.* (2021) 55:79–85. doi: 10.1007/s13139-021-00687-6

Conflict of Interest: The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

Publisher's Note: All claims expressed in this article are solely those of the authors and do not necessarily represent those of their affiliated organizations, or those of the publisher, the editors and the reviewers. Any product that may be evaluated in this article, or claim that may be made by its manufacturer, is not guaranteed or endorsed by the publisher.

Copyright © 2021 Blanc-Béguin, Masset, Robin, Tripier, Hennebicq, Guilloux, Vriamont, Warnier, Cogulet, Eu, Salaun and Le Roux. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (CC BY). The use, distribution or reproduction in other forums is permitted, provided the original author(s) and the copyright owner(s) are credited and that the original publication in this journal is cited, in accordance with accepted academic practice. No use, distribution or reproduction is permitted which does not comply with these terms.

ANNEXE 2: ^{68}Ga -Labelled Carbon
Nanoparticles for Ventilation PET/CT
Imaging: Physical Properties Study and
Comparison with Technegas[®]

RESEARCH ARTICLE

⁶⁸Ga-Labelled Carbon Nanoparticles for Ventilation PET/CT Imaging: Physical Properties Study and Comparison with Technegas®

Frédérique Blanc-Béguin ¹, Philippe Eliès,² Philippe Robin,¹ Raphaël Tripier,³ Nelly Kervarec,² Catherine A. Lemarié,⁴ Simon Hennebicq,¹ Cécile Tromeur,⁵ Virginie Cogulet,⁶ Pierre-Yves Salaün,¹ Pierre-Yves Le Roux¹

¹Médecine Nucléaire, CHRU Brest, EA3878 (GETBO) IFR 148, Univ Brest, Avenue Foch, 29609, Brest Cedex, France

²Service Général des plateformes, Plateforme d'Imagerie et de Mesures en Microscopie, Université de Brest, Université Bretagne Loire, Avenue Le Gorgeu, 29200, Brest, France

³Univ Brest UMR-CNRS 6521 (CEMCA), IFR 148, Avenue Le Gorgeu, 29200, Brest, France

⁴Univ Brest, EA3878 (GETBO), INSERM 1078, Avenue Camille Desmoulins, 29200, Brest, France

⁵Pneumologie, CHRU Brest, EA3878 (GETBO) IFR 148, Boulevard Tanguy Prigent, 29609, Brest Cedex, France

⁶Pharmacie, CHRU Brest, Avenue Foch, 29609, Brest Cedex, France

Abstract

Purpose: The use of ⁶⁸Ga-labelled carbon nanoparticles has been proposed for lung ventilation PET/CT imaging. However, no study has assessed the physical properties of ⁶⁸Ga-labelled carbon nanoparticles. The aim of this study therefore was to evaluate the shape and size of ⁶⁸Ga-labelled carbon nanoparticles, and to determine the composition of the aerosol, as opposed to ^{99m}Tc-labelled carbon nanoparticles aerosol.

Procedures: ^{99m}Tc- and ⁶⁸Ga-labelled carbon nanoparticles, stable gallium carbon nanoparticles, 0.9 % NaCl and 0.1 N HCl-based carbon nanoparticles were produced using an unmodified Technegas® generator, following the usual technique used for clinical Technegas® production. The shape and size of particles were studied by transmission electron microscopy (TEM) after decay of the radioactive samples. The composition of the ⁶⁸Zn- and ⁹⁹Tc-labelled carbon nanoparticles aerosols was assessed using scanning electron microscopy (SEM) coupled with energy dispersive X-ray (EDX) analysis after decay of the ⁶⁸Ga- and ^{99m}Tc-labelled carbon nanoparticles, respectively.

Results: On TEM, all samples showed similar shape with hexagonally structured primary particles, agglomerated in clusters. The mean diameters of primary stable gallium carbon nanoparticles, ⁹⁹Tc- and ⁶⁸Zn-labelled carbon nanoparticles were 22.4 ± 10 nm, 20.9 ± 7.2 nm and 19.8 ± 11.7 nm, respectively.

Conclusion: Using Technegas® generator in the usual clinical way, ^{99m}Tc- and ⁶⁸Ga-labelled carbon nanoparticles demonstrated similar shape and diameters in the same size range size.

Correspondence to: Frédérique Blanc-Béguin; e-mail: frederique.blanc@chu-brest.fr, Pierre-Yves Roux; e-mail: pierre-yves.leroux@chu-brest.fr

These results support the use of ^{68}Ga -labelled carbon nanoparticles for the assessment of regional lung ventilation function with PET imaging.

Key words: Carbon nanoparticles, Gallium-68, Physical properties, Ventilation PET/CT

Introduction

Technegas® is a $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -labelled aerosol which is a well-established agent for regional lung ventilation assessment [1, 2]. $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -labelled carbon nanoparticles reach terminal bronchioles in proportion to regional ventilation distribution, allowing valuable insight into lung physiology. However, the relatively low spatial and temporal resolutions of conventional scintigraphy give limited accuracy in mapping and quantification of functional ventilation volumes [3].

It is now possible to perform lung ventilation imaging with positron emission tomography (PET) technology, using ^{68}Ga -labelled carbon nanoparticles. The technical advantages of PET compared with conventional single photon emission computed tomography (SPECT) include higher sensitivity for detecting radioactive decay, higher spatial resolution, higher temporal resolution and superior quantitative capability [4]. The transition from SPECT to PET technology showed promising results in a variety of pulmonary diseases, including pulmonary embolism diagnosis [5, 6], preoperative assessment of lung cancer patients [7], radiotherapy planning [8] or surgical evaluation of patients undergoing lung volume reduction surgery [9]. Other advantages of PET ventilation imaging with ^{68}Ga -labelled carbon nanoparticles include the reduction of the acquisition time (approximately 5 min), a greater access to respiratory gated acquisition, and the possibility to perform multiple ventilation studies (*e.g.* pre- and postbronchodilator) on the same day owing to the short half-life of gallium-68 [4].

For ^{68}Ga -labelled carbon nanoparticles production, the various research groups [1, 5, 10, 11] used an unmodified commercially available Technegas generator (Cyclopharm Ltd., Australia). ^{68}Ga -labelled carbon nanoparticles, termed “Galligas”, are prepared using the same technique as for Technegas® production, with substitution of gallium-68 for technetium-99 m in the carbon crucible of the synthesis unit [1, 3, 5–7, 11–13]. Several studies on animals and humans indicated similar distribution of $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -labelled carbon nanoparticles and ^{68}Ga -labelled carbon nanoparticles in the lungs [2, 5, 10]. However, while the physical properties and regional lung deposition of Technegas® particles have been widely described [14–17], no study has, to the best of our knowledge, assessed the physical characteristics of ^{68}Ga -labelled carbon nanoparticles. The physical properties of particles such as their shape and size are important parameters in determining the penetration and deposition of aerosol particles in the respiratory tract [18, 19]. Moreover, gallium-68 is added in the carbon crucible of the

Technegas® generator in the form of gallium chloride obtained in a 0.1 N hydrochloride solution while technetium-99 m is used in the form of sodium pertechnetate obtained in a 0.9 % sodium chloride solution. Lloyd *et al.* [15] demonstrated the influence of the eluate salt concentration on the size of $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -labelled carbon nanoparticles. Furthermore, the difference in pH and nature of the eluate may also influence the size and structure of the particles and generate impurities in the aerosol. Ensuring that ^{68}Ga -labelled carbon nanoparticles have similar physical properties to Technegas® particles is important to support the transition from SPECT to PET ventilation imaging.

The aim of this study was to assess the shape and size of ^{68}Ga -labelled carbon nanoparticles and to determine the composition of ^{68}Ga -labelled carbon nanoparticles aerosol, prepared using a Technegas® generator in the usual clinical way, as compared with $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -labelled carbon nanoparticles aerosol.

Materials and Methods

Carbon Nanoparticles Production and Collection

$^{99\text{m}}\text{Tc}$ -labelled carbon nanoparticles and ^{68}Ga -labelled carbon nanoparticles were generated in the usual way using an unmodified commercially available Technegas® generator (Technegas® PLUS, Cyclomedica Pty Ltd., Australia). $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -eluate was obtained by eluting a $^{99\text{m}}\text{Mo}/^{99\text{m}}\text{Tc}$ -generator (TEKCIS®, CIS Bio international, Saclay, France) with 5 mL of NaCl 0.9 %. ^{68}Ga -eluate was obtained by eluting a $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ -generator (GalliaPharm, E&Z radioPharma GmbH, Berlin) with 5 mL of 0.1 N HCl.

For radioactive samples, 0.17 mL of sodium pertechnetate or gallium chloride was added to a graphite crucible (Pulmotec®, Cyclomedica Ireland Ltd). For control samples, 0.17 mL of 0.9 % NaCl, 0.1 N HCl or 4.54×10^{-10} M stable gallium chloride solution (gallium chloride (III) (Alfa Aesar™ gallium chloride(III) ultra dry, Fisherscientific Ilkirch, France) in 0.1 N HCl) were added to a graphite crucible. The production was then performed in the usual way with an evaporation stage at 70 °C for 6 min, in order to dry the technetium-99 m or gallium-68 eluate. During this stage, ultrapure argon is released in the Technegas® generator to replace all the oxygen. This is followed by a combustion stage in which the crucible was heated to 2550 °C for 15 s to generate the $^{99\text{m}}\text{Tc}$ and ^{68}Ga -labelled carbon nanoparticles aerosols. Similarly to production for clinical use, the temperature of 2550 °C and the ultrapure argon atmosphere were used as fixed parameters for all productions.

For the purpose of analysis, carbon nanoparticles were collected immediately after production. $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -labelled carbon nanoparticles and ^{68}Ga -labelled carbon nanoparticles were deposited on a transmission electron microscopy (TEM) grid and on a cellulose and glass fibre filter for scanning electron microscopy (SEM). The filter was wetted with ethanol before starting the measurement. In both cases, particles were collected with an aerosol collector PA 2000 (Algade®) using the inhaling tubing suitable for clinical use. The aerosol collector inhaled 0.1 m^3 of aerosol for 10 min. The radioactivity of the filter and the grid was checked immediately after the collection with a gamma spectrometer equipped with a NaI(Tl) probe (Canberra®).

In order to limit the radiation dose of the operators, all TEM and SEM analyses of radioactive samples were performed after at least 10 physical half-lives for each sample, so the observed particles were ^{99}Tc - and ^{68}Zn -labelled carbon nanoparticles instead of $^{99\text{m}}\text{Tc}$ - and ^{68}Ga -labelled carbon nanoparticles.

Particle Shape and Size Analysis

The shape and size of particles were analysed with TEM. The TEM grids with ^{99}Tc - or ^{68}Zn -labelled carbon nanoparticles, stable gallium labelled carbon nanoparticles and particles generated with 0.9 % NaCl or 0.1 N HCl only were studied without additional preparation with a JEOL JEM 1400 with a tungsten filament gun operating at acceleration voltage of 100 kV. The diameter of $^{99\text{m}}\text{Tc}$ - and ^{68}Ga -labelled carbon nanoparticles was measured from images acquired by TEM with the program DigitalMicrograph (Gatan inc, USA). For each sample, the diameter of one hundred carbon nanoparticles was measured. This experiment was performed four times for ^{99}Tc - and ^{68}Zn -labelled carbon nanoparticles, stable gallium labelled carbon nanoparticles, 0.9 % NaCl- and 0.1 N HCl-based carbon nanoparticles. The mean and standard deviation values for each sample of carbon nanoparticles were calculated.

Correlation Between the $^{99\text{m}}\text{Tc}$ - and ^{68}Ga -Labelled Carbon Nanoparticles Size and the Distribution of the Radioactivity

Polycarbonate membrane filters (Nuclepore-Whatman, Merck, Darmstadt, Germany) of 80-nm pore size and 25 mm of diameter were placed on the glass fibre filter before collecting the carbon nanoparticles with the aerosol collector PA 2000 (Algade®). The radioactivity of the membranes and glass fibre filter were determined with a gamma spectrometer equipped with a NaI(Tl) probe (Canberra®). Two ranges of nanoparticle size were defined: particles superior or equal to 80 nm and particles inferior to 80 nm.

The percentage of radioactivity in each size range was determined by considering the radioactivity of the glass fibre filter and polycarbonate membrane as compared with the total radioactivity (= the polycarbonate membrane and the glass fibre filter).

Three samples were made for both types of particles.

Aerosol Composition and Impurity Research

In order to analyse the composition of both types of aerosols and to identify potential impurities, SEM coupled to EDX (energy dispersive X-ray) was used. The microscope was a HITACHI S-3200 N. The aerosolized $^{99\text{m}}\text{Tc}$ and ^{68}Ga -labelled carbon nanoparticles deposited on the cellulose filters were analysed. The SEM observations coupled with EDX analysis provided spectra of atom composition for each sample. This experiment was performed twice for each type of aerosol.

Results

Particle Shape and Size

Images of all carbon nanoparticles (0.9 % NaCl- and 0.1 N HCl-based carbon nanoparticles, stable gallium, ^{99}Tc - and ^{68}Zn -labelled carbon nanoparticles) obtained by TEM showed primary particles of various sizes with hexagonal shape (see Fig. 1). The primary particles demonstrated a layered structure. The primary particles were agglomerated into larger secondary aggregates, measuring several hundreds of nm (see Fig. 1).

Mean and standard deviation of primary particles of all samples are presented in Table 1.

The mean diameter of primary particles was 22.1 ± 6.2 nm and 23.1 ± 16.8 nm for 0.9 % NaCl- and 0.1 N HCl-based carbon nanoparticles respectively, 20.9 ± 7.2 nm for ^{99}Tc -labelled carbon nanoparticles, 22.4 ± 10 nm and 19.8 ± 11.7 nm for stable gallium and ^{68}Zn -labelled carbon nanoparticles, respectively.

Furthermore, the TEM grid revealed the presence of quadratic crystals in the ^{99}Tc -labelled carbon nanoparticle aerosol (see Fig. 2a). Some quadratic crystals were observed on the grid impregnated of ^{68}Zn -labelled carbon nanoparticles (Fig. 2b).

Correlation Between the $^{99\text{m}}\text{Tc}$ - and ^{68}Ga -Labelled Carbon Nanoparticle Size and the Distribution of the Radioactivity

All filters and TEM grids used to collect $^{99\text{m}}\text{Tc}$ - and ^{68}Ga -carbon nanoparticles were radioactive immediately after carbon nanoparticle collection.

The radioactivity measure of the three polycarbonate membrane filters and glass fibre filter impregnated with $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -labelled carbon nanoparticles demonstrated that

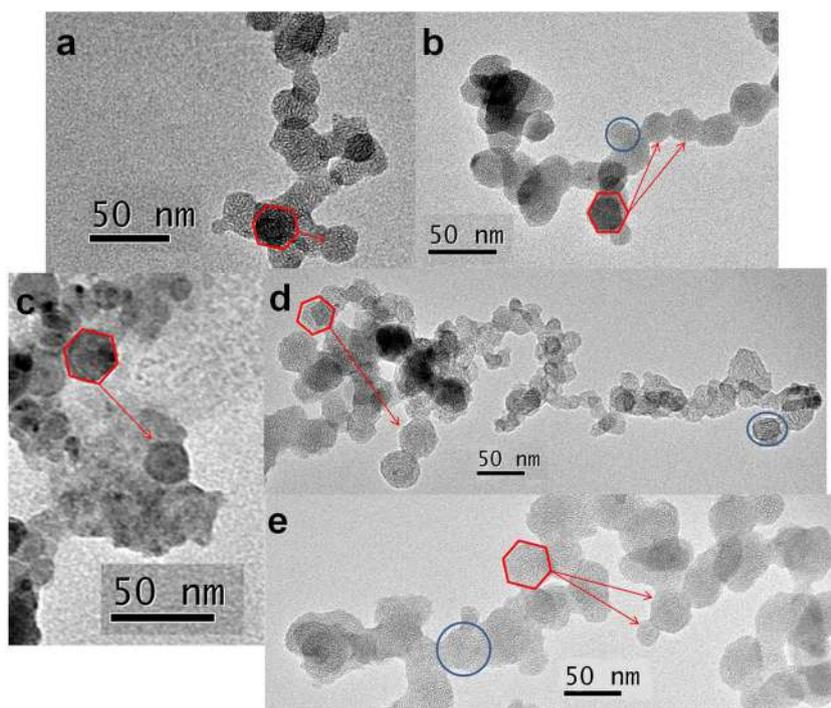


Fig. 1. TEM views of: Primary 0.9 % NaCl-based carbon nanoparticles (a), primary ^{99}Tc -labelled carbon nanoparticles (b), primary 0.1 N HCl-based carbon nanoparticles (c), primary stable gallium labelled carbon nanoparticles (d) and primary ^{68}Zn -labelled carbon nanoparticles (e). TEM shows some primary hexagonal particles for all types of aerosol (red hexagon and red arrows), agglomerated in clusters. The blue circles show the layered structure of some of the primary particles.

primary particles with a diameter inferior to 80 nm contained 80.5 %, 91 % and 83.6 % respectively, of the total sample radioactivity. The results obtained with primary ^{68}Ga -

labelled carbon nanoparticles showed that particles with a diameter inferior to 80 nm contained 79 %, 99 % and 90 % of the total sample radioactivity.

Table 1. Mean diameter and standard deviation of carbon nanoparticles

	Samples	Mean diameter (nm)	Standard deviation
0.9 % NaCl	1	22.9	5.5
	2	21.3	5.3
	3	23.8	6.2
	4	20.6	7.2
	All samples	22.1	6.2
^{99}Tc -labelled carbon nanoparticles	1	23.1	6.2
	2	19.2	6.0
	3	23.4	6.1
	4	17.6	8.5
	All samples	20.9	7.2
0.1 N HCl	1	27.9	18.8
	2	17.2	10.6
	3	25	19.6
	4	22.4	9.5
	All samples	23.1	16.8
Stable gallium carbon nanoparticles	1	23.6	9.2
	2	21	9.1
	3	24.4	10.3
	4	20.9	10.9
	All samples	22.4	10.0
^{68}Zn -labelled carbon nanoparticles	1	20.7	6.7
	2	20.2	13.7
	3	21.6	13.9
	4	16.6	10.6
	All samples	19.8	11.7

The mean diameter and standard deviation of each sample was calculated from the measures of 100 particles

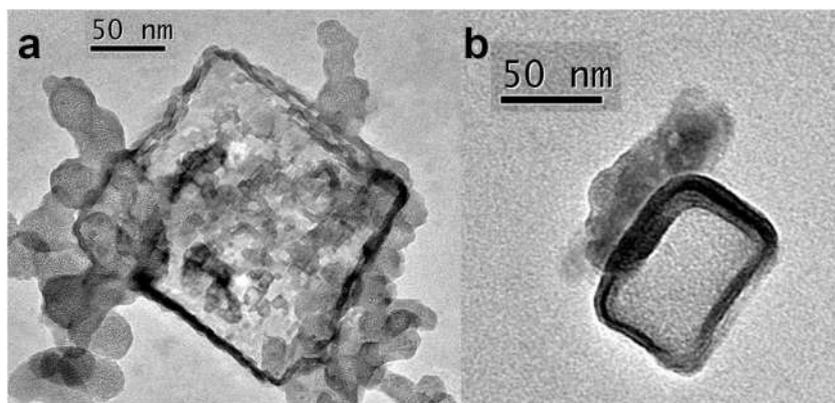


Fig. 2. **a** Sodium chloride crystals observed on a TEM grid impregnated with aerosolized $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -labelled carbon nanoparticles. **b** Crystals observed on a TEM grid impregnated with aerosolized ^{68}Ga -labelled carbon nanoparticles.

Aerosol Composition and Impurity Research

Spectra obtained by SEM coupled to EDX analysis of the three samples (the aerosolized $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -labelled carbon nanoparticles deposited on the filter, the aerosolized ^{68}Zn -labelled carbon nanoparticles deposited on the filter and the filter alone) are shown in Fig. 3. Analysis conditions did not allow statistical comparison of quantitative values obtained for each spectrum.

Technetium atoms were not detectable on the $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -labelled carbon nanoparticles spectrum. However, this spectrum showed the presence of 0.5 % of sodium atoms and 0.24 % of chloride atoms according to the $^{99\text{m}}\text{Tc}$ eluate composition ($[\text{}^{99\text{m}}\text{Tc}]\text{TcO}_4^-$, Na^+ in 0.9 %NaCl solution). From this result, we can infer that the crystals observed on TEM in addition to $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -labelled carbon nanoparticles were sodium chloride crystals, consistent with the use of NaCl 0.9 % as eluate.

Zinc atoms were not detectable on the ^{68}Zn -labelled carbon nanoparticles spectrum. Moreover, 0.03 % of sodium atoms were observed on the ^{68}Zn -labelled carbon nanoparticles, and no chloride atoms (0 % on the spectrum) were visible when the presence of chloride atoms was expected according to the ^{68}Ga eluate composition ($[\text{}^{68}\text{Ga}]\text{GaCl}_3$). The spectrum of the filter alone showed the presence of 0.03 % of chloride atoms and 0 % of sodium atoms in the sample analysed. Moreover the high carbon content of the filter used to collect the aerosols did not enable differentiation of the carbon atoms present from the carbon nanoparticles or from carbon atoms due to the filter.

Discussion

To the best of our knowledge, this is the first study that assessed the physical properties of ^{68}Ga -labelled carbon nanoparticles, prepared using a Technegas® generator in the usual clinical way, as compared with $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -labelled carbon nanoparticles. TEM analysis of all samples (stable gallium, $^{99\text{m}}\text{Tc}$ - and ^{68}Zn -labelled carbon nanoparticles, NaCl- and HCl-based carbon nanoparticles) showed

the presence of primary hexagonally structured particles agglomerated in clusters. The mean diameters of primary particles were in the same size range (20.9 ± 7.2 nm for $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -labelled carbon nanoparticles, 22.4 ± 10 nm for stable gallium-labelled carbon nanoparticles and 19.8 ± 11.7 nm for ^{68}Zn -labelled carbon nanoparticles).

The physical properties of an aerosol, especially the shape and size of particles, influence their aerodynamic properties and determine their distribution and deposition within airways and alveoli. From the five different mechanisms (inertial impaction, sedimentation, diffusion, interception and electrostatic precipitation) by which particle deposition can occur in the lungs, inertial impaction, sedimentation and diffusion are related to the particle diameter [18]. Moreover, Carvalho *et al.* [18] highlighted that the aerosol deposition is influenced by geometric particle size, size distribution of the particles and by their physical state, density, shape and velocity. Technegas® is an established ultra-fine suspension of carbon particles labelled with technetium-99 m [19]. The predicted deposition for a typical Technegas® particle size distribution is mainly in the alveoli and to a lesser extent in the bronchial airways [15, 19]. Given the difference of the eluate (composition and pH) introduced in the crucible for the production of aerosols, ensuring that ^{68}Ga -labelled carbon nanoparticles have similar physical properties to Technegas particles is important to support the transition from SPECT to PET ventilation imaging.

TEM analysis of all primary particles showed similar shape and organization, with primary hexagonally structured particles that were agglomerated into larger secondary aggregates. Similar hexagonal structure of the primary particles and collection in clusters composing the $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -labelled carbon nanoparticles were described by Lemb *et al.* in 1993 [14], and Senden *et al.* in 1997 [17]. The crucible is the source of graphite vapour which ultimately coats the technetium metal and produces thin hexagonal platelets, *i.e.* $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -labelled carbon nanoparticles) [16, 17]. Senden *et al.* observed that a layer of graphite covered the surface of the technetium platelets, and that the graphite layers were oriented parallel to the technetium surface [17]. This observation was also reported by Möller *et al.* in 2006

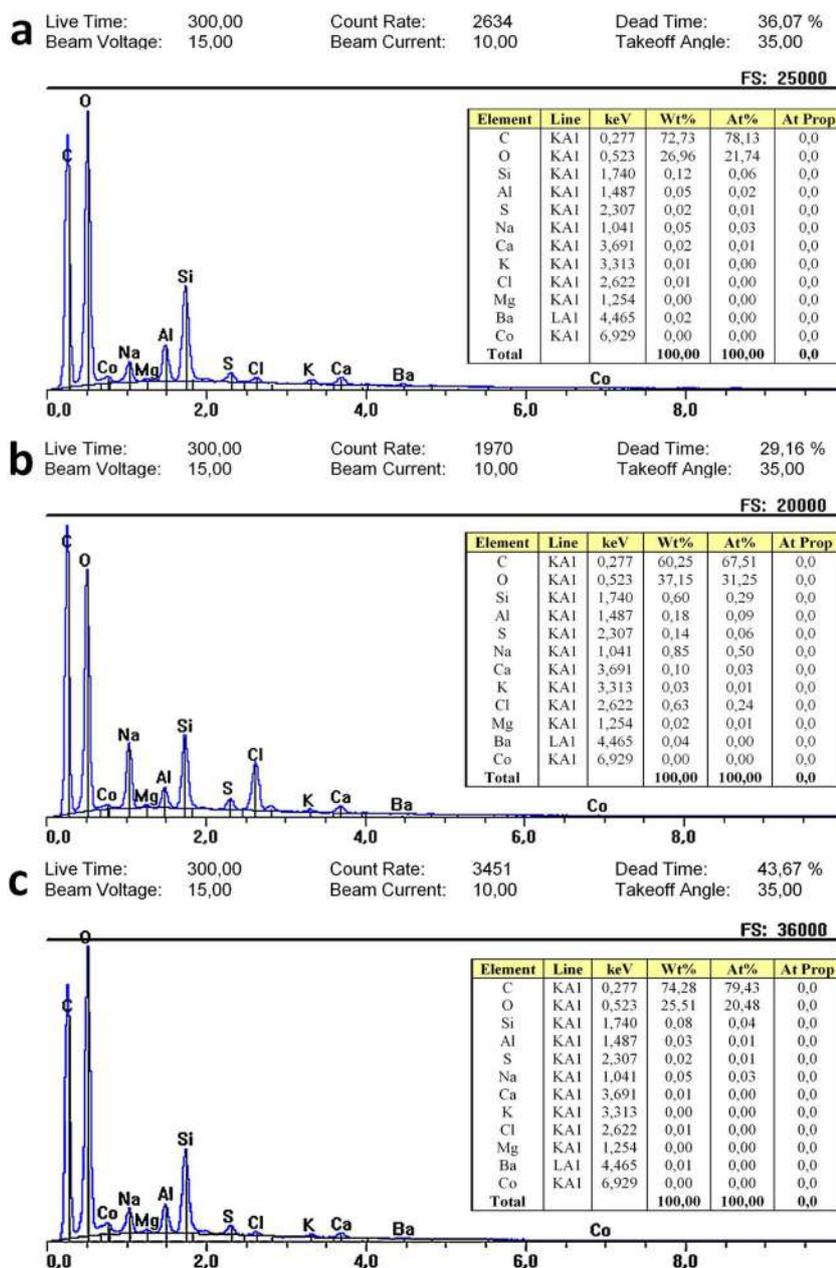


Fig. 3. EDX spectra of cellulose and glass fibre filter (a), $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -labelled carbon nanoparticles (b) and ^{68}Zn -labelled carbon nanoparticles (c). The tables give the percentage of the atoms present in each sample part analysed.

[20]. Our TEM images of $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -labelled carbon nanoparticles were in agreement with these observations. Furthermore, TEM images of primary stable gallium labelled carbon nanoparticles demonstrated a similar layered structure, suggesting that stable gallium was also covered with a layer of graphite oriented parallel to the gallium surface. Accordingly, based on our results, the use of gallium instead of technetium does not modify the shape and structure of primary particles.

Particle size analysis showed particles in the same size range, 20.9 ± 7.2 nm for $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -labelled carbon nanoparticles, 22.4 ± 10 nm for stable gallium carbon nanoparticles and 19.8 ± 11.7 nm for ^{68}Zn -labelled carbon nanoparticles. These

results are in line with the studies from Senden *et al.* [17], Lemb *et al.* [14] and Lloyd *et al.* [15] who described a size of $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -labelled carbon nanoparticles ranging from 7 to 200 nm. Our results are also consistent with the data provided by Cyclomedica®, the supplier of the Technegas® generator who mentions a particle size of approximately 35 nm. Hence, ^{68}Ga -labelled carbon nanoparticles can be considered as ultrafine particles, similar to $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -labelled carbon nanoparticles, in contrast with [$^{99\text{m}}\text{Tc}$]Tc-DTPA droplet aerosols whose size distribution is between 0.5 and 2 μm [19, 21]. This result is consistent with a deposition of the ^{68}Ga -labelled carbon nanoparticles mainly in the alveoli

and to a lesser extent in the bronchial airways, resulting in a homogenous distribution of the radiotracer into the lungs. Furthermore, it is worthwhile noting the consistency of particle shape and size (mean diameter ranging from 17.2 to 25 nm) among the 20 samples of nanoparticles produced in this study.

^{68}Zn -labelled carbon nanoparticles obtained after ^{68}Ga -labelled carbon nanoparticles decay showed similar properties of shape (primary hexagonally shaped particles agglomerated into larger secondary aggregates) and structure (layered structure) to stable gallium and $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -labelled carbon nanoparticles. Moreover ^{68}Zn -labelled carbon nanoparticles were in the same size range as gallium stable and $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -labelled carbon nanoparticles. So, we can assume that ^{68}Ga -labelled carbon nanoparticles have similar physical properties to $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -labelled carbon nanoparticles obtained after $^{99\text{m}}\text{Tc}$ decay. We can also assume that ^{68}Ga -labelled carbon nanoparticles are stable over time since the particle structure is preserved even after decay.

TEM images of carbon nanoparticles revealed the presence of crystals. EDX spectra analysis demonstrated the presence of Na and Cl in the $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -labelled carbon nanoparticles' spectrum. This result is consistent with TEM analysis. Indeed, TEM images of the aerosolized $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -labelled carbon nanoparticles revealed the presence of NaCl crystals, which can be explained by the composition of the $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -eluate ($[\text{}^{99\text{m}}\text{Tc}]\text{TcO}_4^-$, Na^+). Similar NaCl crystals were also reported by Moller *et al.* and Lemb *et al.* [14, 20]. TEM images of aerosolized ^{68}Ga -labelled carbon nanoparticles also showed the presence of crystals among the nanoparticles. EDX results did not reveal presence of chloride in the aerosol obtained from gallium-68. However, according to the composition of the gallium-68 eluate, chloride is likely present in the ^{68}Ga -labelled carbon nanoparticles' aerosol and likely participates in the formation of the crystals observed with TEM. The small amount of ^{68}Zn -labelled carbon nanoparticles in the sample analysed by SEM may explain that chlorine atoms were not detectable on the EDX spectrum. The observed crystals can come from various chloride-based salts formed in the medium. However, the small size of these crystals makes any structural study impossible. To form crystals, chloride needs a counter ion. Several studies [22–24] showed the presence of titanium, natural gallium and natural zinc in the gallium-68 eluate obtained from a TiO_2 based $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ generator. Accordingly, crystals observed on TEM images could be titanium chloride, gallium chloride or zinc chloride. Crystals containing a mix of the metals present in a gallium-68 eluate from a TiO_2 based $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ generator should also be considered. The quadratic shape of the crystals on TEM grids supports these assumptions (depending on the oxidation state of the metal). No other potential impurity was observed on EDX analysis. However, the main limitation of SEM coupled to EDX analysis was the lack of sensitivity of the method.

Our work has some limitations.

First, as mentioned above, the gallium-68 eluate obtained from a TiO_2 -based $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ generator contained metal contaminants such as Al, Fe, Pb, natural gallium or natural zinc in a higher concentration than gallium-68 [24]. The metal contaminants are likely to be incorporated in the nanoparticles or in the crystals. Unfortunately, the methods used in this work were not sensitive enough to detect these contaminants and to assess how they interfere with the size, shape or structure of the nanoparticles. ICP-MS (inductively coupled plasma mass spectrometry) could be useful to accurately study the presence of metal contaminants in the carbon nanoparticles or crystals composition. However, we may assume that each particle contains a representative mixture of the metals eluted from the generator. Furthermore, our series did not show major difference in terms of shape, size and structure of ^{68}Ga -labelled carbon nanoparticles as compared with 0.1 N HCl-based carbon nanoparticles. Accordingly, we may assume that the metal contaminants present in the gallium-68 eluate have a low impact on carbon nanoparticles' physical properties, in contrast to the crucible. Of note, the metal contaminants could be removed from the gallium eluate by performing a prepurification of the eluate before adding it to the crucible.

Second, we cannot assert that each primary carbon nanoparticles contains gallium-68. However, when isolating carbon nanoparticles with a diameter inferior to 80 nm from the secondary larger aggregates, we found that the carbon nanoparticles with a diameter inferior to 80 nm contained 89 % of total radioactivity of the aerosol produced with the gallium-68 eluate (as compared with 85 % for the aerosol produced with the technetium-99 m eluate). As all primary carbon nanoparticle produced with the gallium-68 eluate had a diameter inferior to 80 nm, we can assume that most of the primary carbon nanoparticles produced with gallium-68 eluate contained radioactive metal (= gallium-68). These results are in agreement with several clinical studies which consistently reported a coherent distribution of radioactivity into the lungs after the administration of ^{68}Ga -labelled carbon nanoparticles produced in a similar way [1, 4–7, 11–13]. The third limitation is that we mainly focused the analysis on primary particles, and not on larger secondary aggregates. Indeed, while the primary particles trapped on the filter and the grid are likely to be a representative sample of the primary particles inhaled by the patient, the trapping process may have modified the state of aggregation of particles. The process of aggregation is difficult to assess as it can occur at any time along the journey from the vaporization stage until the lungs, and then into the bronchi and alveoli. Accordingly, it is not possible to extrapolate the behaviour of the particles on the grid to their behaviour *in vivo*, especially for aggregated particles. On the other hand, although Technegas® is the most widely used ventilation agent in clinical nuclear medicine, the process of aggregation of primary $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -labelled carbon nanoparticles remains little known. Given that primary ^{68}Ga -labelled

carbon nanoparticles and primary ^{99m}Tc-labelled carbon nanoparticles have similar physical properties, notably for the size and shape, we may assume that ⁶⁸Ga-labelled carbon nanoparticles behaviour (aggregation, deposition, elimination) is close to that of ^{99m}Tc-labelled carbon nanoparticles in the human subject.

Conclusions

Using Technegas® generator in the usual clinical way, primary ^{99m}Tc- and ⁶⁸Ga-labelled carbon nanoparticles demonstrated similar shape and diameter in the same size range. Accordingly, it may reasonably be assumed that both types of aerosol have the same distribution in the respiratory tract. These data support the use of ⁶⁸Ga-labelled carbon nanoparticles, produced in a similar way to Technegas®, for the assessment of regional lung ventilation function with PET imaging.

Acknowledgments. We would like to thank the technologists at the nuclear medicine department of the Brest university hospital who enabled this research to occur.

Authors' Contributions. All authors contributed to the study conception and design. TEM and SEM coupled to EDX were performed by Philippe Eliès and Frédérique Blanc-Béguin. Frédérique Blanc-Béguin, Pierre-Yves Le Roux and Raphaël Tripièr contributed to the interpretation of data for the work. The first draft of the manuscript was written by Frédérique Blanc-Béguin and Pierre-Yves Le Roux and all authors commented on previous versions of the manuscript. All authors read and approved the final manuscript.

Compliance with Ethical Standards

Conflict of Interest

The authors declare that they have no conflict of interest.

References

1. Kotzerke J, Andreeff M, Wunderlich G (2010) PET aerosol lung scintigraphy using Galligas. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 37(1):175–177
2. Borges JB, Velikyan I, Langstrom B, Sorensen J, Ulin J, Maripuu E, Sandstrom M, Widstrom C, Hedenstierna G (2011) Ventilation distribution studies comparing Technegas and "Gallgas" using ⁶⁸GaCl₃ as the label. *J Nucl Med* 52(2):206–209
3. Le Roux PY, Robin P, Salaun PY (2018) New developments and future challenges of nuclear medicine and molecular imaging for pulmonary embolism. *Thromb Res* 163:236–241
4. Le Roux PY, Hicks RJ, Siva S, Hofman MS (2019) PET/CT lung ventilation and perfusion scanning using Galligas and Gallium-68-MAA. *Semin Nucl Med* 49(1):71–81
5. Hofman MS, Beauregard JM, Barber TW, Neels OC, Eu P, Hicks RJ (2011) ⁶⁸Ga PET/CT ventilation-perfusion imaging for pulmonary embolism: a pilot study with comparison to conventional scintigraphy. *J Nucl Med* 52(10):1513–1519
6. Le Roux PY, Irvani A, Callahan J et al (2019) Independent and incremental value of ventilation/perfusion PET/CT and CT pulmonary angiography for pulmonary embolism diagnosis: results of the PECAN pilot study. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 46(8):1596–1604
7. Le Roux PY, Leong TL, Barnett SA et al (2016) Gallium-68 perfusion positron emission tomography/computed tomography to assess pulmonary function in lung cancer patients undergoing surgery. *Cancer Imaging* 16(1):24
8. Siva S, Thomas R, Callahan J, Hardcastle N, Pham D, Kron T, Hicks RJ, MacManus MP, Ball DL, Hofman MS (2015) High-resolution pulmonary ventilation and perfusion PET/CT allows for functionally adapted intensity modulated radiotherapy in lung cancer. *Radiother Oncol* 115(2):157–162
9. Leong P, Le Roux PY, Callahan J et al (2017) Reduced ventilation-perfusion (V/Q) mismatch following endobronchial valve insertion demonstrated by Gallium-68 V/Q photon emission tomography/computed tomography. *Respirol Case Rep* 5(5):e00253
10. Ament SJ, Maus S, Reber H et al (2013) PET lung ventilation/perfusion imaging using (⁶⁸Ga) aerosol (Galligas) and (⁶⁸Ga)-labelled macroaggregated albumin. *Recent Results Cancer Res* 194:395–423
11. Le Roux PY, Siva S, Steinfors DP et al (2015) Correlation of ⁶⁸Ga ventilation-perfusion PET/CT with pulmonary function test indices for assessing lung function. *J Nucl Med* 56(11):1718–1723
12. Oehme L, Zophel K, Golgor E et al (2014) Quantitative analysis of regional lung ventilation and perfusion PET with (⁶⁸Ga)-labelled tracers. *Nucl Med Commun* 35(5):501–510
13. Le Roux PY, Siva S, Callahan J et al (2017) Automatic delineation of functional lung volumes with (⁶⁸Ga)-ventilation/perfusion PET/CT. *EJNMMI Res* 7(1):82
14. Lemb M, Oei TH, Eifert H, Gunther B (1993) Technegas: a study of particle structure, size and distribution. *Eur J Nucl Med* 20(7):576–579
15. Lloyd JJ, Shields RA, Taylor CJ, Lawson RS, James JM, Testra HJ (1995) Technegas and Pertechnegas particle size distribution. *Eur J Nucl Med* 22(5):473–476
16. Pourchez J, Albuquerque-Silva IMD, Cottier M, Clotagatide A, Vecellio L, Durand M, Dubois F (2013) Generation and characterization of radiolabelled nanosized carbonaceous aerosols for human inhalation studies. *J Aerosol Sci* 55:1–11
17. Senden TJ, Mook KH, Gerald JF, Burch WM, Browitt RJ, Ling CD, Heath GA (1997) The physical and chemical nature of technegas. *J Nucl Med* 38(8):1327–1333
18. Carvalho TC, Peters JI, Williams RO 3rd. (2011) Influence of particle size on regional lung deposition—what evidence is there? *Int J Pharm* 406(1–2):1–10
19. Sanchez-Crespo A (2019) Lung scintigraphy in the assessment of aerosol deposition and clearance. *Semin Nucl Med* 49(1):47–57
20. Möller W, Felten K, Seitz J, Sommerer K, Takenaka S, Wiebert P, Philipson K, Svartengren M, Kreyling WG (2006) A generator for the production of radiolabelled ultrafine carbonaceous particles for deposition and clearance studies in the respiratory tract. *J Aerosol Sci* 37:631–644
21. Jogi J, Jonson B, Ekberg M, Bajc M (2010) Ventilation-perfusion SPECT with ^{99m}Tc-DTPA versus Technegas: a head-to-head study in obstructive and nonobstructive disease. *J Nucl Med* 51(5):735–741
22. Velikyan I (2015) Continued rapid growth in (⁶⁸Ga) applications: update 2013 to June 2014. *J Label Comp Radiopharm* 58(3):99–121
23. Velikyan I (2015) ⁶⁸Ga-based radiopharmaceuticals: production and application relationship. *Molecules* 20(7):12913–12943
24. Cusnir R, Cakebread A, Cooper MS et al (2019) The effects of trace metal impurities on Ga-68-radiolabelling with a tris(3-hydroxy-1,6-dimethylpyridin-4-one) (THP) chelator. *RCS Adv* 9:37214–37221

Publisher's Note. Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

ANNEXE 3: Radiation exposure to nuclear
medicine technologists performing a V/Q
PET: comparison with conventional V/Q
scintigraphy, FDG PET and Ga DOTATOC
PET procedures



OPEN ACCESS

EDITED BY

Christian La Fougère,
Tübingen University Hospital, Germany

REVIEWED BY

Christian Zach,
Ludwig Maximilian University of
Munich, Germany
Juergen Kupferschlaeger,
University Hospital
Tuebingen, Germany

*CORRESPONDENCE

Frédérique Blanc-Béguin
frederique.blanc@chu-brest.fr
Pierre-Yves Le Roux
pierre-yves.leroux@chu-brest.fr

SPECIALTY SECTION

This article was submitted to
Nuclear Medicine,
a section of the journal
Frontiers in Medicine

RECEIVED 22 September 2022

ACCEPTED 16 November 2022

PUBLISHED 30 November 2022

CITATION

Blanc-Béguin F, Damien P, Floch R,
Kerleguer K, Hennebicq S, Robin P,
Salaün P-Y and Le Roux P-Y (2022)
Radiation exposure to nuclear
medicine technologists performing a
V/Q PET: Comparison with
conventional V/Q scintigraphy,
[¹⁸F]FDG PET and [⁶⁸Ga]Ga DOTATOC
PET procedures.
Front. Med. 9:1051249.
doi: 10.3389/fmed.2022.1051249

COPYRIGHT

© 2022 Blanc-Béguin, Damien, Floch,
Kerleguer, Hennebicq, Robin, Salaün
and Le Roux. This is an open-access
article distributed under the terms of
the [Creative Commons Attribution
License \(CC BY\)](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/). The use, distribution
or reproduction in other forums is
permitted, provided the original
author(s) and the copyright owner(s)
are credited and that the original
publication in this journal is cited, in
accordance with accepted academic
practice. No use, distribution or
reproduction is permitted which does
not comply with these terms.

Radiation exposure to nuclear medicine technologists performing a V/Q PET: Comparison with conventional V/Q scintigraphy, [¹⁸F]FDG PET and [⁶⁸Ga]Ga DOTATOC PET procedures

Frédérique Blanc-Béguin ^{1*}, Pascal Damien², Romain Floch³,
Kévin Kerleguer³, Simon Hennebicq¹, Philippe Robin ¹,
Pierre-Yves Salaün ¹ and Pierre-Yves Le Roux ^{1*}

¹Medecine nucleaire, CHRU Brest, INSERM UMR 1304 (GETBO), Univ Brest, Brest, France, ²Unité de radioprotection et radiophysique, CHRU Brest, Brest, France, ³Medecine nucleaire, CHRU Brest, Brest, France

Introduction: Ventilation/Perfusion (V/Q) PET/CT is an emerging imaging modality for regional lung function evaluation. The same carrier molecules as conventional V/Q scintigraphy are used but they are radiolabelled with gallium-68 (⁶⁸Ga) instead of technetium-99m (^{99m}Tc). A recurrent concern regarding V/Q PET imaging is the radiation dose to the healthcare workers. The aim of this study was to evaluate the total effective dose and the finger dose received by the technologist when performing a V/Q PET procedure, and to compare them with the radiations doses received with conventional V/Q scintigraphy, FDG PET and Ga DOTATOC PET procedures.

Materials and methods: The whole body dose measurement was performed 10 times for each of the evaluated procedures using an electronic personal dosimeter (ED). For V/Q PET and V/Q scintigraphy procedures, ventilation and perfusion stages were separately evaluated. Internal exposure was measured for ventilation procedures. Finger dose measurements were performed 5 times for each of the PET procedures using Thermoluminescence (TL) pellets.

Results: The technologist effective dose when performing a V/Q PET procedure was $2.83 \pm 0.67 \mu\text{Sv}$, as compared with $1.16 \pm 0.34 \mu\text{Sv}$ for conventional V/Q scintigraphy, $2.13 \pm 0.77 \mu\text{Sv}$ for [⁶⁸Ga]Ga-DOTATOC, and $2.86 \pm 1.79 \mu\text{Sv}$ for FDG PET procedures, respectively. The finger dose for the V/Q PET procedure was similar to the dose for a [⁶⁸Ga]Ga-DOTATOC scan (0.35 mSv and 0.32 mSv, respectively).

Conclusion: The technologist total effective dose for a V/Q PET procedure is ~2.4 higher than the dose for a conventional V/Q scintigraphy, but in the same range than the radiation exposure when performing common PET procedures, both in terms of total effective dose or finger dose. These results should be reassuring for the healthcare workers performing a V/Q PET procedure.

KEYWORDS

radiation exposure, technologists, V/Q PET, V/Q scintigraphy, effective dose, finger dose

Introduction

Ventilation/Perfusion (V/Q) PET is an emerging imaging modality for regional lung function evaluation (1). V/Q PET has demonstrated promising results in various pulmonary diseases, including pulmonary embolism diagnosis (2, 3) radiotherapy planning (4, 5) or preoperative evaluation for lung cancer surgery (6, 7). Several larger prospective clinical trials are also underway (NCT04179539, NCT03569072, NCT04942275, and NCT05103670).

The rationale of V/Q PET imaging is straightforward (8). The test uses the same carrier molecules as conventional V/Q scintigraphy, i.e., macroaggregated albumin (MAA) particles for perfusion imaging and aerosolized carbon nanoparticles for ventilation imaging. However, they are radiolabelled with gallium-68 (^{68}Ga) instead of technetium-99m ($^{99\text{m}}\text{Tc}$), allowing acquisition with PET, a vastly superior technology for image acquisition (9). Various manual or automated processes have been proposed to carry out [^{68}Ga]Ga-MAA synthesis (10–14). For ventilation imaging, preparing and administering aerosolized ^{68}Ga labeled carbon nanoparticles is very similar than with $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -labeled carbon nanoparticles. Indeed, adding a ^{68}Ga eluate instead of $^{99\text{m}}\text{Tc}$ eluate in the carbon crucible of an unmodified commercially available TechnegasTM PLUS generator provides carbon nanoparticles with similar physical properties (15).

However, a recurrent concern regarding V/Q PET imaging is the radiation dose to the healthcare workers (16, 17). Indeed, positron-emitting radionuclides have high gamma photon energy (511 keV) as compared to $^{99\text{m}}\text{Tc}$ radiopharmaceuticals (140 keV). Thus, the whole body dose measured when using PET radiopharmaceuticals is usually 2 to 4 times higher than with $^{99\text{m}}\text{Tc}$ radiopharmaceuticals (18–21). This is of particular concern for ventilation PET imaging as the TechnegasTM PLUS generator is designed to shield the 140-keV gamma-emissions of $^{99\text{m}}\text{Tc}$ and not the 511-keV gamma-emissions of ^{68}Ga . Given that ^{68}Ga labeled carbon nanoparticles preparation requires operating the device during ~10 min, this may question the radiation safety of the technologist. Finally, when administering ^{68}Ga labeled carbon nanoparticles to the patient,

the technologist may inhale aerosolized particles, leading to internal contamination.

The aim of this study was to evaluate the total effective dose and the finger dose received by the healthcare worker when performing a V/Q PET procedure, and to compare them with the radiations doses received with conventional V/Q scintigraphy, FDG PET and Ga DOTATOC PET procedures.

Materials and methods

Preparation and administration procedures

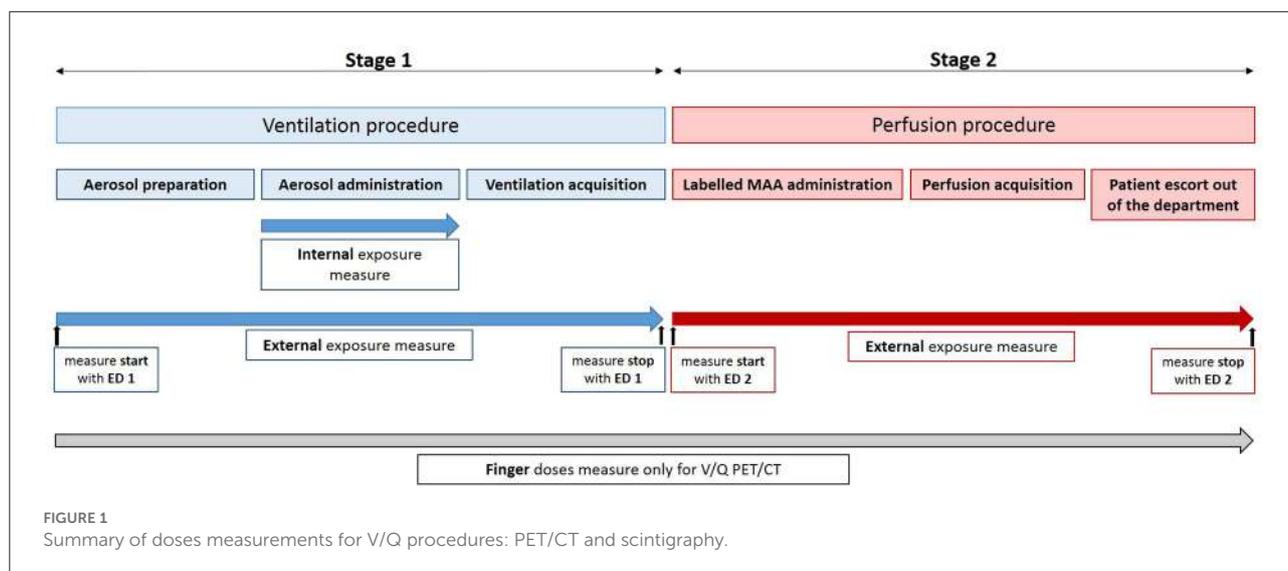
V/Q procedures

Both V/Q scintigraphy and PET procedures comprises two successive steps: the ventilation and the perfusion. The ventilation step can be broken down into three successive stages: the aerosol preparation, the aerosol administration, and the PET acquisition, respectively. It is immediately followed by the perfusion step which comprises labeled MAA administration, PET acquisition and patient escort out of the department after image acquisition. A summary of V/Q procedures and dose measurement is presented in Figure 1. All these stages were performed by nuclear medicine technologists.

V/Q PET

The aerosolized ^{68}Ga -labeled carbon nanoparticles were prepared using an unmodified TechnegasTM PLUS generator (Cyclomedica Pty Ltd., Australia), following the commonly used procedure (2, 8, 16, 17). Briefly, a ^{68}Ga eluate ($^{68}\text{GaCl}_3$) was manually introduced in the graphite crucible previously humidified with 99% ethanol. After loading the crucible, the standard process used to prepare technegas was followed. The crucible was first heated for 6 min at 70°C during the simmer stage, and was then heated to $2,550 \pm 50^\circ\text{C}$ for 15 s in the high purity argon atmosphere during the burn stage. In order to increase the radioactivity contained in the aerosol, the crucible was loaded 2 times before the simmer stage.

The aerosol delivery was performed using the technegas administration system and a mask. Five to ten aerosol inhalation



cycles were performed. The deposited activity in patient's lungs was monitored real-time during the aerosol administration by measuring the activity over the chest with a collimated Geiger-Müller monitor. During all the stage, the technologist was next to the patient. During the aerosol inhalation cycles, a gas venting system (LemerPax[®], France) was used to capture the aerosol which could be released into the room.

Finally, the acquisition stage consisted in accompanying and positioning the patient on the PET/CT bed. The technologist did not stay near the patient during the acquisition time.

[⁶⁸Ga]Ga-MAA suspension was prepared in the radiopharmacy using an automated process (miniAIO[®], Trasis). This stage was performed by the radiopharmacist and was not included in the radiation dose measurement. [⁶⁸Ga]Ga-MAA were manually administered by direct intravenous injection. The administration was done by the technologists while the patient was still lying down on the PET/CT bed, immediately after the ventilation PET acquisition. During the acquisition time, the technologists did not stay in the same room as the patient.

V/Q scintigraphy

The ^{99m}Tc-labeled carbon nanoparticles (technegas) were prepared using a Technegas[™] PLUS generator, following the instructions of the generator supplier. A ^{99m}Tc eluate (^{99m}TcO₄⁻, Na⁺) was manually introduced in the graphite crucible. Similar procedures as described for the aerosolized ⁶⁸Ga-labeled carbon nanoparticles preparation and administration, and then image acquisition, were followed.

Similar to the perfusion PET/CT procedure, [^{99m}Tc]Tc-MAA were prepared in the radiopharmacy. This stage was not included in the radiation dose measurement. [^{99m}Tc]Tc-MAA were manually administered by the technologists by direct intravenous injection. The radiopharmaceuticals administration

and the images acquisition were performed as previously described for the perfusion PET/CT procedure.

[¹⁸F]FDG and [⁶⁸Ga]Ga-DOTATOC PET/CT procedures

[¹⁸F]FDG was a ready to use radiopharmaceutical purchased from CURIUM (Rennes, France). [¹⁸F]FDG was administered by the technologists with a semi-automated injector RAD-Inject[®] (Tema Sinergie[®], Italy).

The [⁶⁸Ga]Ga-DOTATOC previously prepared in the radiopharmacy was manually intravenously administered by the technologists.

A [¹⁸F]FDG or [⁶⁸Ga]Ga-DOTATOC procedures encompassed the time spent in administrating [¹⁸F]FDG or [⁶⁸Ga]Ga-DOTATOC, escorting the patient to the PET room 1 h after the radiopharmaceutical administration, positioning the patient on the camera bed and escorting the patient out of the department after image acquisition.

Protection devices

All syringes were delivered in a tungsten syringe shield (Medisystem[®], France) with wall thickness of 5 mm for ⁶⁸Ga and ¹⁸F radiopharmaceuticals and 2 mm for ^{99m}Tc radiopharmaceuticals, respectively. To transport syringes between the radiopharmacy, the labeled carbon nanoparticles preparation room, the administration room or the camera room, syringes were placed in tungsten carrying cases (LemerPax[®], France) for gamma photon energy emitting radionuclides, with wall thickness of 10 mm for ⁶⁸Ga and ¹⁸F radiopharmaceuticals and 3 mm thick for ^{99m}Tc radiopharmaceuticals, respectively.

To introduce the eluate into the Technegas[™] PLUS generator crucible and to administrate the labeled MAA to

the patient, syringes were placed in tungsten shield with wall thickness of 5 mm for ^{68}Ga radiopharmaceuticals and 2 mm for $^{99\text{m}}\text{Tc}$ radiopharmaceuticals, respectively.

Dose measurements

Radiation dose measurement was performed 10 times for each of the evaluated procedures, i.e., V/Q PET, V/Q scintigraphy, [^{18}F]FDG PET scans and [^{68}Ga]Ga-DOTATOC PET scans. Finger dose measurements were performed 5 times for each of the three PET procedures.

The whole body dose (= External exposure dose) was measured for all evaluated procedures using an electronic personal dosimeter (ED) EPD mk2 (APVL[®], France) placed in the upper left pocket. For V/Q PET and V/Q scintigraphy procedures, ventilation and perfusion stages were separately evaluated. Technologists changed their ED between the ventilation and the perfusion phases (see Figure 1).

Because of the preparation and the administration of aerosolized labeled carbon nanoparticles, both internal and external exposures were assessed for the ventilation stages (see Figure 1).

Hence, in order to estimate the internal exposure dose of the technologist due to the inhalation of aerosolized $^{99\text{m}}\text{Tc}$ - or ^{68}Ga -labeled carbon nanoparticles, the inhaled dose was evaluated by collecting air sample from 5 min before to 5 min after the aerosol administration stage. The air was collected on a cellulose and glass fibers filter (collection efficiency up to 98%) with an aerosol collector PA 2000 (Algade[®]) at a flow of 33 L per minute. The filter radioactivity was measured immediately after the collection for 200 s with a gamma spectrometer equipped with a NaI (TI) probe (Canberra[®]) and calibrated for $^{99\text{m}}\text{Tc}$ and ^{68}Ga .

The finger doses were measured using Thermoluminescence (TL) pellets worn on both hands thumb and index finger tip during all the procedures (see Figure 1). The received dose by the irradiated TL pellets was determined by the manufacturer (IRSN[®], France). The worst case-scenario was retained.

Dose calculation

Calculation of the effective doses was performed as follows according to IRSN guideline (report PRP-HOM/DIR n°2015-00009).

The technologist total effective dose of the V/Q procedures was calculated as follows:

$$\begin{aligned} \text{Total E} &= E_{(\text{ventilation internal exposure dose})} \\ &+ E_{(\text{ventilation external exposure dose})} \\ &+ E_{(\text{perfusion external exposure dose})} \end{aligned}$$

Where E was the effective dose expressed in mSv.

HP(10) value obtained from the ED was used as the dose due to external exposure. The mean effective dose for each procedures was used.

The effective dose due to ventilation internal exposure was calculated as follows:

$$E_{(\text{ventilation internal exposure dose})} = I \times h(g)$$

Where I is the Incorporation expressed in Bq,

h(g) is the effective dose per intake by inhalation ($\mu\text{Sv}\cdot\text{Bq}^{-1}$). For ^{68}Ga , $h(g) = 2.8 \times 10^{-5} \mu\text{Sv}\cdot\text{Bq}^{-1}$, for $^{99\text{m}}\text{Tc}$, $h(g) = 1.2 \times 10^{-5}$.

I was evaluated as follows by assuming that all the inhaled air remained in the lungs:

$$I = d \times t \times c$$

Where: d = operator respiratory flow = 1.2 m³/h,

t = measurement time = 10 min,

c = ^{68}Ga or $^{99\text{m}}\text{Tc}$ concentration in the air (Bq/m^3).

The exposure doses results and time results were expressed as mean \pm SD. The Mann-Whitney test was performed to statistically compare total effective doses and finger doses.

Results

Table 1 shows results of effective dose measurement of ^{68}Ga V/Q PET and $^{99\text{m}}\text{Tc}$ V/Q scintigraphy procedures. Table 2 shows technologists total effective dose and finger doses of ^{68}Ga V/Q PET, ^{18}F FDG PET and ^{68}Ga V/Q PET procedures.

V/Q PET

Mean activity of ^{68}Ga eluate used to prepare labeled carbon nanoparticles was 56.30 ± 8.42 MBq. Mean activity of [^{68}Ga]Ga-MAA contained in the syringes was 49.24 ± 7.22 MBq.

The total exposure dose for the ventilation and the perfusion procedures was $1.93 \pm 0.60 \mu\text{Sv}$ and $0.9 \pm 0.3 \mu\text{Sv}$, respectively (Table 1). The total effective dose of the V/Q PET procedure was $2.83 \pm 2.67 \mu\text{Sv}$. The internal exposure was $0.22 \pm 0.31 \mu\text{Sv}$. The finger dose obtained in the worst case-scenario was 0.35 mSv (Table 2).

V/Q scintigraphy

Mean activity of $^{99\text{m}}\text{Tc}$ eluate used to prepare labeled carbon nanoparticles was 582.0 ± 71.1 MBq. Mean activity of [$^{99\text{m}}\text{Tc}$]Tc-MAA contained in the syringes was 170.9 ± 12.9 MBq.

The total exposure dose for the ventilation and perfusion procedures was $0.75 \pm 0.25 \mu\text{Sv}$ and $0.41 \pm 0.24 \mu\text{Sv}$,

TABLE 1 Results of effective doses due to pulmonary ventilation and perfusion, and total effective dose according to the radionuclide used to performed V/Q exam.

		Ventilation			Perfusion	Total
		External exposure dose (μSv)	Internal exposure dose (μSv)	Total exposure dose (μSv)	Total exposure dose (μSv)	Total effective dose (μSv)
V/Q PET	Mean	1.71	0.22	1.93	0.90	2.83
	SD	0.48	0.31	0.60	0.30	0.67
V/Q scintigraphy	Mean	0.67	0.08	0.75	0.41	1.16
	SD	0.26	0.09	0.25	0.24	0.34

TABLE 2 Technologists total effective dose and finger doses according to the exam performed, total process timing, and syringes mean activity.

	Total effective dose (μSv)	Finger dose (mSv)	Process mean duration (min)	Syringes mean activity (MBq)
^{68}Ga]Ga-DOTATOC	2.13 \pm 0.77	0.32	66 \pm 7	207.81 \pm 52.80
^{18}F]FDG	2.86 \pm 1.79	0.01	75 \pm 9	231.88 \pm 1.79.80
V/Q PET/CT	2.83 \pm 0.67	0.35	68 \pm 20	105.55 \pm 8.59

^{18}F]FDG was injected with an automated injector.

respectively. The total effective dose for V/Q scintigraphy was $1.16 \pm 0.34 \mu\text{Sv}$, significantly lower as compared with the total effective dose of the V/Q PET Procedure ($p < 0.001$). The internal exposure was $0.08 \pm 0.09 \mu\text{Sv}$.

^{18}F]FDG process

The mean dose administered for a ^{18}F]FDG procedure was $231.88 \pm 70.91 \text{ MBq}$. Mean total effective dose of the ^{18}F]FDG PET process was $2.86 \pm 1.79 \mu\text{Sv}$.

There was no significant difference between the total effective doses of the V/Q PET and the ^{18}F]FDG PET procedures ($p = 0.307$). The finger dose obtained in the worst case-scenario was 0.01 mSv .

^{68}Ga]Ga-DOTATOC process

The mean dose administered to the patient of $207.81 \pm 52.80 \text{ MBq}$ (Table 2). The total effective dose of the ^{68}Ga]Ga-DOTATOC procedure was $2.13 \pm 0.77 \mu\text{Sv}$, without significant difference as compared with the V/Q PET procedure ($p = 0.043$). The finger dose obtained in the worst case-scenario was 0.32 mSv .

Discussion

To the best of our knowledge, this is the first study that assessed the radiation exposure to the healthcare worker when

performing a V/Q PET procedure. We found that the total effective dose for a V/Q PET procedure was about 2.4 times higher than the dose for a V/Q scintigraphy, but in the same range than the radiation exposure due to a ^{68}Ga]Ga-DOTATOC or ^{18}F]FDG PET procedure.

In our study, the technologist effective dose when performing a V/Q PET procedure was $2.83 \pm 0.67 \mu\text{Sv}$, as compared with $1.16 \pm 0.34 \mu\text{Sv}$ for a conventional V/Q scintigraphy procedure. Measured doses in this study for conventional V/Q scintigraphy are consistent with literature data. Indeed, whole body mean dose due to perfusion lung scan with $^{99\text{m}}\text{Tc}$]Tc-MAA was reported between $0.4 \pm 0.2 \mu\text{Sv}$ and $1.1 \pm 1.2 \mu\text{Sv}$, as compared with $0.41 \pm 0.24 \mu\text{Sv}$ in our study (19, 21). Few data about the internal dose due to ventilation lung scan are available in the literature and values are very different from one work to another. Indeed, internal exposures of $0.002 \mu\text{Sv}$ and $0.17 \mu\text{Sv}$ per ventilation lung scan were reported (22, 23). The internal exposure of $0.08 \mu\text{Sv}$ per ventilation lung scan found in this study was in the range of this data.

The effective dose for a V/Q PET procedure was 2.4 times higher than for a V/Q scintigraphy. This is also consistent with literature data which mentioned a whole body dose from 2 to 4 times higher with positron-emitting radionuclides than with radionuclides for conventional scintigraphy (18–21). As compared with other PET procedures, the radiation dose for the V/Q PET was of particular concern given that the ^{68}Ga labeled carbon nanoparticles preparation requires operating the device during $\sim 10 \text{ min}$ and that the TechnegasTM PLUS generator is not designed to shield the 511-keV gamma-emissions of ^{68}Ga . Furthermore, the technologist inhale aerosolized particles leading to internal contamination. However, we found that

without adding a lead shield to the TechnegasTM PLUS generator, the percentage of the total effective dose due to the ventilation procedure was in the same range for V/Q PET/CT and V/Q scintigraphy (68 and 65%, respectively). It is worth noting that the higher energy of PET tracers is partly counter-balanced by the lower activity handled for the V/Q PET procedure: 56.30 ± 8.42 MBq of ^{68}Ga eluate vs. 582.0 ± 71.1 MBq of $^{99\text{m}}\text{Tc}$ eluate for the carbon nanoparticles labeling, and 49.24 ± 7.22 MBq of [^{68}Ga]Ga-MAA vs 170.9 ± 12.9 MBq for the perfusion, respectively.

The radiation dose of the V/Q PET procedure should be put into perspective with commonly used PET tracers. The total effective dose of a V/Q PET (2.83 ± 0.67 μSv) was in the same range than the dose calculated for other procedures performed with high photon gamma energy emitters. Indeed, the total effective dose for a [^{68}Ga]Ga-DOTATOC and a FDG procedure was 2.13 ± 0.77 μSv and 2.86 ± 1.79 μSv , respectively.

For [^{18}F]FDG procedures, total effective dose ranging from 2.5 to 2.9 μSv were reported (20).

The finger dose for the V/Q PET procedure was also similar to the dose for a [^{68}Ga]Ga-DOTATOC scan (0.35 and 0.32 mSv, respectively). These measured doses were lower than the finger doses previously published by Diwedi et al. for [^{68}Ga]Ga-DOTANOC injection, which were 1.26 ± 0.3 mSv for the left ring finger and 1.03 ± 0.13 mSv for right ring finger (24). In this study, the same range of activity was injected, but no syringe shield was used in contrast to the present work. In our study, the total of radioactivity handled by technologists for the V/Q PET procedure was two times less than the syringe activity for [^{68}Ga]Ga-DOTATOC (105.55 ± 8.59 MBq and 207.81 ± 52.80 MBq, respectively). This was likely counter-balanced by a longer and more complicated handling of the syringes for the V/Q PET procedure. In both V/Q PET and DOTATOC procedures, the syringes were manually administered. In contrast, [^{18}F]FDG was administrated with automated injector, which explains the lower finger dose for the FDG PET procedure (0.01 mSv).

Our results should also be put into perspective with the technical advantage of V/Q PET over conventional V/Q SPECT scintigraphy. Indeed, according to the ALARA principle and given that the radiation exposure is higher with V/Q PET than with V/Q SPECT imaging, V/Q PET imaging should only be used when the test provides higher diagnostic performance. V/Q PET/CT is inherently a superior technology for image acquisition, with higher sensitivity and spatial resolution, allowing more accurate evaluation of regional lung function (1). Other advantages include reduced acquisition time and the opportunity to readily perform respiratory-gated acquisition (25). Preliminary results showed promising results for the diagnosis of acute pulmonary embolism (1, 2), pending for the results of ongoing diagnostic accuracy studies (NCT04179539). Another clinical indication for which PET has an additional value over SPECT imaging is radiotherapy

planning, for individualizing treatment plans and predicting radiation induced lung injury (4, 5, 7, 26–29).

Limitations have to be considered in this work. First, the size of the samples was small (10 measures for each investigated procedures). Second, measures for the V/Q PET procedures were performed at the start of the use of this new technology in our department. Although the process is very similar as compared with technegas preparation, the radiation exposure measures may have been overestimated due to an increased duration of the procedures. On the other hand, measures in this study have been obtained in the worst case-scenario, which is often retained for radiation exposure calculation. Third, the perfusion total exposure dose of the V/Q PET procedure include some radiation from the ^{68}Ga -labeled carbon nanoparticles previously inhaled by the patient. In some clinical setting, such as radiotherapy planning (5, 25), only a perfusion PET/CT scan (without ventilation) is performed. In that context, the total effective dose for a perfusion PET procedure would likely be lower than that reported in this work.

Fourth, we cannot assert that the collection of air samples is an exact representation of aerosolized particles inhaled by the technologist. However, the use of an aerosol collector is a common method for air contamination studies (22, 23, 30). Most importantly, similar collection method was used for Tc and Ga aerosols, allowing the comparison between both procedures.

Conclusion

The technologist total effective dose for a V/Q PET procedure is ~ 2.4 higher than the dose for a conventional V/Q scintigraphy procedure. However, the radiation exposure for a V/Q PET procedure is equivalent to the exposure of other PET procedures, both in terms of total effective dose or finger dose. These results should be reassuring for the healthcare workers performing V/Q PET scan.

Data availability statement

The original contributions presented in the study are included in the article/supplementary material, further inquiries can be directed to the corresponding authors.

Author contributions

Dose measurements were performed by FB-B, RE, KK, and SH. Dose calculations were performed by PD and FB-B. The first draft of the manuscript was written by FB-B and P-YL. All authors commented on previous versions of the manuscript, contributed to the study conception and design, and read and approved the final manuscript.

Acknowledgments

We would like to acknowledge the technologists at the Nuclear Medicine Department of the Brest University Hospital who have enabled this research to occur.

Conflict of interest

The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships

that could be construed as a potential conflict of interest.

Publisher's note

All claims expressed in this article are solely those of the authors and do not necessarily represent those of their affiliated organizations, or those of the publisher, the editors and the reviewers. Any product that may be evaluated in this article, or claim that may be made by its manufacturer, is not guaranteed or endorsed by the publisher.

References

1. Le Roux PY, Hicks RJ, Siva S, Hofman MS. PET/CT Lung ventilation and perfusion scanning using galligas and gallium-68-MAA. *Semin Nuclear Med.* (2019) 49:71–81. doi: 10.1053/j.semnuclmed.2018.10.013
2. Hofman MS, Beauregard JM, Barber TW, Neels OC, Eu P, Hicks RJ. 68Ga PET/CT ventilation-perfusion imaging for pulmonary embolism: a pilot study with comparison to conventional scintigraphy. *J Nuclear Med.* (2011) 52:1513–9. doi: 10.2967/jnumed.111.093344
3. Le Roux P-Y, Iravani A, Callahan J, Burbury K, Eu P, Steinfors DP, et al. Independent and incremental value of ventilation/perfusion PET/CT and CT pulmonary angiography for pulmonary embolism diagnosis: results of the PECAN pilot study. *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* (2019) 46:1596–604. doi: 10.1007/s00259-019-04338-z
4. Siva S, Thomas R, Callahan J, Hardcastle N, Pham D, Kron T, et al. High-resolution pulmonary ventilation and perfusion PET/CT allows for functionally adapted intensity modulated radiotherapy in lung cancer. *Radiother Oncol.* (2015) 115:157–62. doi: 10.1016/j.radonc.2015.04.013
5. Lucia F, Rehn M, Blanc-Béguin F, Le Roux PY. radiation therapy planning of thoracic tumors: a review of challenges associated with lung toxicities and potential perspectives of gallium-68 lung PET/CT imaging. *Front Med.* (2021) 8:723748. doi: 10.3389/fmed.2021.723748
6. Le Roux PY, Siva S, Steinfors DP, Callahan J, Eu P, Irving LB, et al. Correlation of 68Ga ventilation-perfusion PET/CT with pulmonary function test indices for assessing lung function. *J Nuclear Med.* (2015) 56:1718–23. doi: 10.2967/jnumed.115.162586
7. Le Roux PY, Leong TL, Barnett SA, Hicks RJ, Callahan J, Eu P, et al. Gallium-68 perfusion positron emission tomography/computed tomography to assess pulmonary function in lung cancer patients undergoing surgery. *Cancer Imaging.* (2016) 16:24. doi: 10.1186/s40644-016-0081-5
8. Blanc-Béguin F, Hennebicq S, Robin P, Tripier R, Salaun PY, Le Roux PY. Radiopharmaceutical labelling for lung ventilation/perfusion PET/CT imaging: a review of production and optimization processes for clinical use. *Pharmaceuticals.* (2022) 15:518. doi: 10.3390/ph15050518
9. Hicks RJ, Hofman MS. Is there still a role for SPECT-CT in oncology in the PET-CT era? *Nat Rev Clin Oncol.* (2012) 9:712–20. doi: 10.1038/nrclinonc.2012.188
10. Blanc-Béguin F, Masset J, Robin P, Tripier R, Hennebicq H, Guilloux V, et al. Fully automated 68Ga-labeling and purification of macroaggregated albumin particles for lung perfusion PET imaging. *Front Nuclear Med.* (2021) 1:10. doi: 10.3389/fnmed.2021.778191
11. Mueller D, Kulkarni H, Baum RP, Odparlik A. Rapid Synthesis of (68)Ga-labeled macroaggregated human serum albumin (MAA) for routine application in perfusion imaging using PET/CT. *Appl Radiat Isot.* (2017) 122:72–7. doi: 10.1016/j.apradiso.2017.01.003
12. Maus S, Buchholz HG, Ament S, Brochhausen C, Bausbacher N, Schreckenberger M. Labelling of commercially available human serum albumin kits with 68Ga as surrogates for 99mTc-MAA microspheres. *Appl Radiat Isot.* (2011) 69:171–5. doi: 10.1016/j.apradiso.2010.09.008
13. Even GA, Green MA. Gallium-68-labeled macroaggregated human serum albumin, 68Ga-MAA. *Int J Radiat Applic Instrumenta Part B Nuclear Med Biol.* (1989) 16:319–21. doi: 10.1016/0883-2897(89)90014-7
14. Jain A, Subramanian S, Pandey U, Sarma HD, Ram R, Dash A. In-house preparation of macroaggregated albumin (MAA) for 68Ga labeling and its comparison with commercially available MAA. *J Radioanal Nucl Chem.* (2016) 308:8. doi: 10.1007/s10967-015-4509-3
15. Blanc-Béguin F, Elies P, Robin P, Tripier R, Kervarec N, Lemarie CA, et al. (68)Ga-labelled carbon nanoparticles for ventilation PET/CT imaging: physical properties study and comparison with technegas(R). *Mol Imaging Biol.* (2021) 23:62–9. doi: 10.1007/s11307-020-01532-6
16. Currie GM, Bailey DL. A technical overview of technegas as a lung ventilation agent. *J Nucl Med Technol.* (2021) 49:313–9. doi: 10.2967/jnmt.121.262887
17. Bailey DL, Eslick EM, Schembri GP, Roach PJ. (68)Ga PET ventilation and perfusion lung imaging-current status and future challenges. *Semin Nuclear Med.* (2016) 46:428–35. doi: 10.1053/j.semnuclmed.2016.04.007
18. Benatar NA, Cronin BF, O'Doherty MJ. Radiation dose rates from patients undergoing PET: implications for technologists and waiting areas. *Eur J Nuclear Med.* (2000) 27:583–9. doi: 10.1007/s002590050546
19. Chiesa C, De Sanctis V, Crippa F, Schiavini M, Fraigola CE, Bogni A, et al. Radiation dose to technicians per nuclear medicine procedure: comparison between technetium-99m, gallium-67, and iodine-131 radiotracers and fluorine-18 fluorodeoxyglucose. *Eur J Nucl Med.* (1997) 24:1380–9. doi: 10.1007/s002590050164
20. Guillet B, Quentin P, Waultier S, Bourrelly M, Pisano P, Mundler O. Technologist radiation exposure in routine clinical practice with 18F-FDG PET. *J Nuclear Med Technol.* (2005) 33:175–9.
21. Sloboda RS, Schmid MG, Willis CP. Technologist radiation exposures from nuclear medicine imaging procedures. *J Nuclear Med Technol.* (1987) 15:8.
22. Ferrand O, Brouquières G, Puech B, Bussy E. Zonage radiologique d'un service de médecine nucléaire : exemple de l'hôpital d'instruction des armées Sainte-Anne. *Méd Nucléaire.* (2010) 34:11. doi: 10.1016/j.mednuc.2010.10.006
23. Brudecki K, Borkowska E, Gorzkiewicz K, Kostkiewicz M, Mroz T. (99m)Tc activity concentrations in room air and resulting internal contamination of medical personnel during ventilation-perfusion lung scans. *Radiat Environ Biophys.* (2019) 58:469–75. doi: 10.1007/s00411-019-00793-2
24. Dwivedi DK, Snehlata, Dwivedi AK, Lochab SP, Kumar R, Naswa N, et al. Radiation exposure to nuclear medicine personnel handling positron emitters from Ge-68/Ga-68 generator. *Indian journal of nuclear medicine : IJNM.* (2011) 26:86–90. doi: 10.4103/0972-3919.90258
25. Le Roux PY, Siva S, Callahan J, Claudic Y, Bourhis D, Steinfors DP, et al. Automatic delineation of functional lung volumes with (68)Ga-ventilation/perfusion PET/CT. *EJNMMI Res.* (2017) 7:82. doi: 10.1186/s13550-017-0332-x
26. Hardcastle N, Hofman MS, Hicks RJ, Callahan J, Kron T, MacManus MP, et al. Accuracy and utility of deformable image registration in (68)Ga 4D PET/CT assessment of pulmonary perfusion changes during and after lung radiation therapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* (2015) 93:196–204. doi: 10.1016/j.ijrobp.2015.05.011

27. Siva S, Hardcastle N, Kron T, Bressel M, Callahan J, MacManus MP, et al. Ventilation/perfusion positron emission tomography-based assessment of radiation injury to lung. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* (2015) 93:408–17. doi: 10.1016/j.ijrobp.2015.06.005
28. Argula RG, Strange C, Ramakrishnan V, Goldin J. Baseline regional perfusion impacts exercise response to endobronchial valve therapy in advanced pulmonary emphysema. *Chest.* (2013) 144:1578–86. doi: 10.1378/chest.12-2826
29. Leong P, Le Roux PY, Callahan J, Siva S, Hofman MS, Steinfors DP. Reduced ventilation-perfusion (V/Q) mismatch following endobronchial valve insertion demonstrated by Gallium-68 V/Q photon emission tomography/computed tomography. *Respirol Case Rep.* (2017) 5:e00253. doi: 10.1002/rcr2.253
30. Martinez J, Baciú T, Artigues M, Danus M, Penalver A, Aguilar C, et al. Nuclear medicine: workplace monitoring and internal occupational exposure during a ventilation/perfusion single-photon emission tomography. *Radiat Environ Biophys.* (2019) 58:407–15. doi: 10.1007/s00411-019-00798-x

ANNEXE 4: Radiopharmaceutical Labelling
for Lung Ventilation/Perfusion PET/CT
Imaging: A Review of Production and
Optimization Processes for Clinical Use



Review

Radiopharmaceutical Labelling for Lung Ventilation/Perfusion PET/CT Imaging: A Review of Production and Optimization Processes for Clinical Use

Frédérique Blanc-Béguin ^{1,*}, Simon Hennebicq ¹, Philippe Robin ¹, Raphaël Tripier ², Pierre-Yves Salaün ¹ and Pierre-Yves Le Roux ¹

¹ Univ Brest, UMR-INSERM 1304, GETBO, CHRU Brest, Médecine Nucléaire, Avenue Foch, 29200 Brest, France; simon.hennebicq@chu-brest.fr (S.H.); philippe.robin@chu-brest.fr (P.R.); pierre-yves.salaun@chu-brest.fr (P.-Y.S.); pierre-yves.leroux@chu-brest.fr (P.-Y.L.R.)

² Univ Brest UMR-CNRS 6521 (CEMCA), IFR 148, Avenue Le Gorgeu, 29200 Brest, France; raphael.tripier@univ-brest.fr

* Correspondence: frederique.blanc@chu-brest.fr

Abstract: Lung ventilation/perfusion (V/Q) positron emission tomography-computed tomography (PET/CT) is a promising imaging modality for regional lung function assessment. The same carrier molecules as a conventional V/Q scan (i.e., carbon nanoparticles for ventilation and macro aggregated albumin particles for perfusion) are used, but they are labeled with gallium-68 (⁶⁸Ga) instead of technetium-99m (^{99m}Tc). For both radiopharmaceuticals, various production processes have been proposed. This article discusses the challenges associated with the transition from ^{99m}Tc- to ⁶⁸Ga-labelled radiopharmaceuticals. The various production and optimization processes for both radiopharmaceuticals are reviewed and discussed for optimal clinical use.

Keywords: V/Q PET/CT; [⁶⁸Ga]Ga-MAA; ⁶⁸Ga-labelled carbon nanoparticles



Citation: Blanc-Béguin, F.; Hennebicq, S.; Robin, P.; Tripier, R.; Salaün, P.-Y.; Le Roux, P.-Y. Radiopharmaceutical Labelling for Lung Ventilation/Perfusion PET/CT Imaging: A Review of Production and Optimization Processes for Clinical Use. *Pharmaceuticals* **2022**, *15*, 518. <https://doi.org/10.3390/ph15050518>

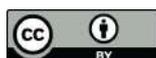
Academic Editor: Klaus Kopka

Received: 16 March 2022

Accepted: 20 April 2022

Published: 22 April 2022

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Copyright: © 2022 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

1. Introduction

Lung ventilation-perfusion (V/Q) scintigraphy allows the regional lung function distribution of the two major components of gas exchanges, namely ventilation and perfusion, to be assessed [1]. Regional lung ventilation can be imaged after inhaling inert gases or radiolabelled aerosols that reach alveoli or terminal bronchioles. Regional lung perfusion can be assessed after intravenous injection of radiolabelled macroaggregated albumin (MAA) particles trapped during the first pass in the terminal pulmonary arterioles [2,3].

Pulmonary embolism (PE) diagnosis is the main clinical indication of lung V/Q scintigraphy in pulmonary embolism (PE) diagnosis. V/Q scanning was the first non-invasive test validated for PE diagnosis. The technique was then further improved with the introduction of single-photon emission computed tomography (SPECT) and, more recently, SPECT/computed tomography (CT) imaging [4]. There are many other clinical situations in which an accurate assessment of regional lung function may improve patient management besides PE diagnosis. This includes predicting post-operative pulmonary function in patients with lung cancer, radiotherapy planning to minimize the dose to the lung parenchyma with preserved function and reduce radiation-induced lung toxicities, or pre-surgical assessment of patients with severe emphysema undergoing a lung volume reduction surgery. However, although lung scintigraphy should play a central role in these clinical scenarios, its use has not been widely implemented in daily clinical practice [5]. One of the likely explanations could be the inherent technical limitations of SPECT imaging for the accurate delineation and quantification of regional ventilation and perfusion function [4].

Lung V/Q positron emission tomography (PET)/CT is a novel promising imaging modality for regional lung function assessment [6,7]. The technique has shown promising

results in various clinical scenarios, including PE diagnosis [8], radiotherapy planning [9], or pre-surgical evaluation of lung cancer patients [10]. Several large prospective clinical trials are underway, such as (NCT04179539, NCT03569072, NCT04942275, and NCT05103670). The rationale is simple [5]. PET/CT uses the same carrier molecules as conventional V/Q scanning, i.e., carbon nanoparticles for ventilation imaging and MAA particles for perfusion imaging. Similar physiological processes are therefore assessed with SPECT or PET imaging. However, carrier molecules are labelled with gallium-68 (^{68}Ga) instead of technetium-99m ($^{99\text{m}}\text{Tc}$), allowing the acquisition of images with PET technology. PET has technical advantages compared with SPECT, including higher sensitivity, higher spatial and temporal resolution, superior quantitative capability and much greater access to respiratory-gated acquisition [11].

This article discusses the challenges associated with the switch from $^{99\text{m}}\text{Tc}$ - to ^{68}Ga -labelled V/Q radiopharmaceuticals. The various synthesis and optimization processes for both radiopharmaceuticals are reviewed and discussed, focusing on optimal clinical use.

2. Challenges of the Transition from $^{99\text{m}}\text{Tc}$ - to ^{68}Ga -Labelled Radiopharmaceuticals for Lung Imaging

As the chemical and physical properties of $^{99\text{m}}\text{Tc}$ and ^{68}Ga are different, the transition from V/Q scintigraphy to V/Q PET/CT implies some adaptation.

$^{99\text{m}}\text{Tc}$, a metallic radionuclide, is the most widely available isotope in diagnostic nuclear medicine. It is found in oxidation states $-I$ to VII , but the technetium (Tc) complexes for medical applications are found mostly in oxidation state V [12]. $^{99\text{m}}\text{Tc}$, which mainly decays (88%) with a half-life of 6.02 h by gamma emission ($E_\gamma = 140$ keV) to the ground state technetium-99 (^{99}Tc), is obtained as $^{99\text{m}}\text{TcO}_4^-$ from a molybdenum-99 (^{99}Mo)/ $^{99\text{m}}\text{Tc}$ generator commercially available and compatible with the requirements of Good Manufacturing Practices (GMP). The Tc(VII) in $^{99\text{m}}\text{TcO}_4^-$ has to be reduced to a lower oxidation state to produce a $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -stable peptide complex or a reactive intermediate complex [13]. Tc(V) forms 5- or 6-coordinate complexes, always in the presence of multiple bond cores with heteroatoms such as oxygen (O), nitrogen (N) or sulfur (S), among which the most common in radiopharmaceuticals are the oxotechnetium and the nitridotechnetium cores [12].

The prevalent gallium (Ga) oxidation state in aqueous solution is $+3$, forming several gallate anions as gallium hydroxides $\text{Ga}(\text{OH})_4^-$ at pH superior to 7. Ga(III) is a hard acid and is strongly bound to ligands featuring multiple anionic oxygen donor sites according to HSAB (hard-soft acid-base). Still, some cases have shown it to have a good affinity for thiolates [14]. Ga(III) ions can form four, five and six bonds, explaining all the possible salts or chelates. ^{68}Ga decays with a half-life of 67.71 min by positron emission (88.88%) and electron capture (11.11%) to the ground state zinc-68 (^{68}Zn). It is obtained from a commercially available germanium-68 (^{68}Ge)/ ^{68}Ga generator, compatible with GMP requirements.

The first challenge of the switch from $^{99\text{m}}\text{Tc}$ - to ^{68}Ga -labelled radiopharmaceuticals for lung V/Q imaging is to maintain the pharmacological properties of V and Q tracers. Both MAA and carbon nanoparticles labelled with $^{99\text{m}}\text{Tc}$ have been largely studied. They have been shown to have a biodistribution throughout the lungs that allow an accurate assessment of regional lung perfusion and ventilation function. The principle of lung V/Q PET/CT imaging is to assess similar physiological processes than with conventional V/Q scan, but with greater technology for image acquisition.

The technique needs to be easy to implement in nuclear medicine facilities to enable routine use. The preparation should be fast, simple, GMP-compliant and safe for the operators. Furthermore, radiopharmaceutical production should use unmodified commercially available kits of carrier molecules and similar equipment and devices as much as possible as those used for conventional V/Q scans.

3. Lung Perfusion Imaging

3.1. [^{99m}Tc]Tc-MAA

3.1.1. Chemical Aspects of [^{99m}Tc]Tc-MAA Particles

Among the various type of human serum albumin (HSA) available for radionuclide labeling, MAA is the most commonly used form in nuclear medicine facilities. The nature of the complex [^{99m}Tc]Tc-MAA has not been fully elucidated. It was hypothesized that the labelling of proteins with ^{99m}TcO₄⁻ involved reduction of the anionic Tc(VII) to a cationic Tc by the tin Sn(II) contained in the commercial kit, which was then complexed with electron-donating groups [15–17]. Some authors have assumed that ^{99m}TcO₄⁻ reduced by the Sn(II)- albumin aggregates probably formed a (Tc = O)³⁺ complex with the aggregates [15]. More recently, high positive cooperativity was shown between ^{99m}Tc and MAA, although MAA particles did not seem to have binding pockets [18,19]. Moreover, it has been shown that the speed of radiolabelling increased from HAS to albumin nanocolloids (NC) to MAA due to the greater reaction surface [18]. This result agreed with the hypothesis, which assumed that in HAS labelling kits, Sn²⁺ may be enclosed in the tertiary structure of the protein and that it may take some time for the ^{99m}TcO₄⁻ added to diffuse the site of Sn²⁺ for reduction reaction [17]. Furthermore, MAA has very complex shapes with larger surfaces than a spherical shape (as for NC) of equivalent diameter, enhancing the reactivity properties [18,19].

Whatever the exact nature of the link between ^{99m}Tc and MAA, the complex [^{99m}Tc]Tc-MAA demonstrates high stability as more than 90% of the radioactivity is still associated with the MAA after 24h of in vitro incubation in whole human blood at 37 °C [20].

3.1.2. Technical Aspects: [^{99m}Tc]Tc-MAA Preparation

[^{99m}Tc]Tc-MAA particles are manually prepared by introducing a ^{99m}Tc solution in a commercially available MAA kit. The ^{99m}Tc is obtained from a ⁹⁹Mo/^{99m}Tc generator as sodium pertechnetate (^{99m}TcO₄⁻, Na⁺). The MAA labelling with ^{99m}Tc, which occurred at pH 6, is a simple and fast (about 15 min) process, which allows the production of GMP [^{99m}Tc]Tc-MAA without heating step [18].

Before intravenous administration to the patients, the [^{99m}Tc]Tc-MAA suspensions are tested according to the standards mentioned by the kit supplier for clinical use. The radiochemical purity (RCP) is generally controlled using instant thin layer chromatography (iTLC), and the radioactivity distribution is assessed by filtration of the [^{99m}Tc]Tc-MAA suspension through a 3-µm pore size membrane. The results are obtained by measuring filter and filtrate radioactivity. The radionuclidic purity and the pH have to be controlled as well. As MAA are large particles, [^{99m}Tc]Tc-MAA must be resuspended by gentle agitation before dispensing.

3.1.3. Pharmacological Aspects

In a [^{99m}Tc]Tc-MAA suspension, the average particle size is 20–40 µm, and 90% have a size between 10 and 90 µm. There should be no particles larger than 150 µm [21]. [^{99m}Tc]Tc-MAA particles reach the lung via the pulmonary arterial circulation. Due to the size of the alveolar capillaries (5.5 µm on average), the [^{99m}Tc]Tc-MAA does not reach the alveolar capillaries but largely accumulates in the terminal pulmonary arterioles. Particles inferior to 10 µm may pass through the lungs and then phagocytose by the reticuloendothelial system [21]. According to the requirement of the MAA suppliers, the number of MAA particles injected should range from 60,000 to 700,000 to obtain uniform distribution of activity reflecting regional perfusion (for over 280 billion pulmonary capillaries and 300 million pre-capillary arterioles) [22].

Many studies have shown the suitability of the [^{99m}Tc]Tc-MAA suspension to perform pulmonary perfusion scintigraphy. In rabbits, it has been shown that more than 90% of the activity was found in the lungs within a few minutes of administration and that greater than 80% of the activity remained in the lungs over the first hour of the study [20]. Malone et al. assessed the biodistribution of MAA particles in humans [23]. A total of 98% of

activity was measured in the lungs immediately after injection. The removal of activity from the lungs followed an approximately bi-exponential form with the first phase in which 56% of the components had an effective half-life of 0.88 ± 0.16 h and the second phase in which 44% of the components had a half-life of 4.56 ± 0.39 h. Moreover, 3 h after injection, the [^{99m}Tc]Tc-MAA uptake in the kidneys and the bladder was $3.6 \pm 2.1\%$ and $5.1 \pm 4.0\%$, respectively [23].

3.2. [^{68}Ga]Ga-MAA

3.2.1. Chemical Aspects of [^{68}Ga]Ga-MAA Particles

MAA labelling with ^{68}Ga has been proposed using bifunctional chelators such as EDTA or DTPA, forming quite stable and inert chelates [24,25]. However, direct labelling was performed by most groups. Direct labelling uses a co-precipitation of $^{68}\text{Ga(III)}$ and albumin particles [26,27]. Mathias et al. hypothesized that ^{68}Ga was adsorbed to the surface of the MAA particles after hydrolysis to insoluble gallium hydroxide without excluding specific interactions of Ga(III) ion with ion pairs exposed at the particle surface [28]. As Ga is present as Ga(OH)_4^- at a basic pH, ^{68}Ga does not bind to MAA at a pH above 7. The MAA behavior matches with solvent-exposed glutamate and aspartate amino acids, which should be binding sites for multivalent cations with low affinity and low cation specificity [18]. Furthermore, Jain et al. found that stannous chloride (SnCl_2) present in the MAA kits for the reduction of ^{99m}Tc had a strong influence on [^{68}Ga]Ga-MAA formation (radiochemical yield, mean particle diameter, serum stability), suggesting that Sn could be linked to MAA or ^{68}Ga [29]. More recently, it has been assumed that MAA has multiple affinity binding sites for ^{68}Ga [18]. Moreover, during ^{99m}Tc and ^{68}Ga competition evaluation for MAA binding sites, MAA showed no discrimination between ^{99m}Tc and ^{68}Ga coherently without a binding pocket [18].

3.2.2. Technical Aspects: [^{68}Ga]Ga-MAA Preparation

[^{99m}Tc]Tc-MAA preparation is a manual and simple process involving only 2 steps: generator elution and mixing the eluate with the MAA. In contrast, because of the chemical properties of ^{68}Ga , at least four steps are required to label MAA particles with ^{68}Ga : $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ generator elution, mixing the ^{68}Ga eluate with the MAA, heating the reaction medium and the purification of the [^{68}Ga]Ga-MAA. The key steps of MAA labelling with ^{68}Ga are presented in Figure 1.

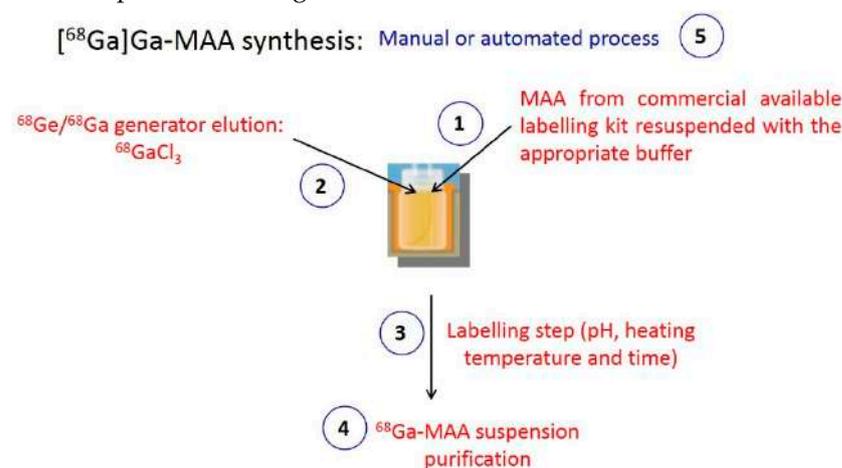


Figure 1. Key points of MAA labelling with ^{68}Ga .

Table 1 summarizes the various [^{68}Ga]Ga-MAA preparation processes described in the literature. The main diverging points of the preparations include (1) the choice of MAA particles, (2) the need for a ^{68}Ga eluate pre-purification, (3) the labelling conditions (pH, heating temperature and time), (4) the [^{68}Ga]Ga-MAA suspension purification, and (5) the automation of the process (Figure 1).

Table 1. [⁶⁸Ga]Ga-MAA labelling conditions of various methods described in the literature.

	Albumin Particles Labelled		⁶⁸ Ga Eluate Pre-Purification		Labelling Conditions				Radiolabelling Yield (%)	Process Duration (min)	Manual/Automated Process
	Nature and Origin	Washed/Non-Washed	Yes/No	Method Used	pH	Buffer	Heating Time (min)	T °C			
Hnatowich et al. [26]	HSA microspheres. Commercial kit.	Non-washed	Yes	Anion exchange chromatography	2.6–3		15	40–60	65.0	40	Manual
Hayes et al. [30]	HSA microspheres. Commercial kit.	Non-washed	Yes	Anion exchange chromatography	4.8	Sodium acetate solution	10	37	97.4 ± 1.0		Manual
Maziere et al. [31]	HSA microspheres. Commercial kit.	Non-washed	Yes	Pre-concentration	4.7		20	85	93.2 ± 2.5	40	Manual
Even and Green [24]	MAA. Commercial kit.	Washed	Yes	Pre-concentration	4.7	Sodium acetate buffer	15	74 ± 1	77.0–97.0		Manual
Mathias et al. [28]	MAA. Commercial kit.	Washed			5–6	Sodium acetate solution	15	75	81.6 ± 5.3	25	Manual
Maus et al. [32]	MAA. Commercial kit.	Washed	Yes	Fractionation	4	HEPES	20	75	85.0 ± 2.0	30	Manual
Hofman et al. [6]	MAA. Commercial kit.	Washed	Yes	SCX cartridge	6.5	Sodium acetate solution	5	70	≥90.0		Manual
Ament et al. [33]	MAA. Commercial kit.	Washed	Yes	Fractionation	4	HEPES	20	75	85.0 ± 2.0		Manual
Amor-Coarasa et al. [34]	MAA. Commercial kit.	Washed	No		4.7	Sodium acetate solution	15	75	78.3 ± 3.1		Manual
			Yes	Combination of chromatographic exchange resins (cationic then anionic)	4.7	Sodium acetate solution	15	75	97.6 ± 1.5		Manual
Jain et al. [29]	MAA. Homemade with and without SnCl ₂		No		6		15	75	77.6		Manual
Mueller et al. [35]	MAA. Commercial kit.	Washed and non-washed	Yes	SCX cartridge	4.5	Sodium acetate buffer	10	115	Not mentioned (non-washed) 75.0 (washed)	20 (manual) 14 (automated)	Manual and automated
Shannehsazzadeh et al. [22]	MAA. Commercial kit.	Washed	Yes	Fractionation	4	HEPES	8	75	90.0–95.0		Manual
Persico et al. [36]	MAA. Commercial kit.	Washed	Yes	SCX cartridge	6–6.5	Sodium acetate buffer	15	40	97.0		Manual and automated

Table 1. Cont.

	Albumin Particles Labelled		⁶⁸ Ga Eluate Pre-Purification		Labelling Conditions				Radiolabelling Yield (%)	Process Duration (min)	Manual/Automated Process
	Nature and Origin	Washed/Non-Washed	Yes/No	Method Used	pH	Buffer	Heating Time (min)	T °C			
Gultekin et al. [37]	MAA. Commercial kit.	Washed	Yes	PSH ⁺ cartridge	4–5	HEPES	7	90	80.0		Manual
Ayşe et al. [38]	MAA. Commercial kit.	Washed	Yes	PSH ⁺ cartridge	4–5	HEPES	7	90	85.0 ± 3.0	16	Automated
Blanc-Béguin et al. [39]	MAA. Commercial kit.	Non washed	No		4.3	Sodium acetate solution	5	60	96.0 ± 1.7	15	Automated

- MAA

As shown in Table 1, almost all authors used commercial kits available to prepare [^{99m}Tc]Tc-MAA for labelling MAA particles with ^{68}Ga . The use of commercially available kits is an important consideration to facilitate the implementation of the technique in nuclear medicine facilities. However, commercially available MAA kits contain SnCl_2 and free albumin. Consequently, many groups carried out MAA labelling with washed MAA to remove the excess of free albumin and SnCl_2 (stannous chloride), which is usually used as a reduction component, from the kit and thus improve the labelling yields (Table 1). Ayşe et al. obtained a better final product RCP by washing the MAA particles before the labelling (RCP = $99.0 \pm 0.1\%$) rather than not washing (RCP = $95.0 \pm 0.1\%$) [38]. On the other hand, Mueller et al. found no significant difference in the radiolabelling yields using non-washed and pre-washed MAA (80% and 75%, respectively) [35]. In studies that used unmodified commercially available MAA kits, radiolabelling yields were consistently superior to 75.0% (Table 1) [28,35,39]. Furthermore, Jain et al. found lower radiolabelling yields using in-house synthesized MAA without SnCl_2 than MAA with SnCl_2 ($49.9 \pm 1.3\%$ and $84.5 \pm 5.3\%$, respectively). They found that stannous chloride present in the MAA kits used had a strong influence on the [^{68}Ga]Ga-MAA formation (radiochemical yield, mean particle diameter, serum stability), suggesting that Sn could be linked to MAA or ^{68}Ga [29]. Consequently, using unmodified non-washed commercially available MAA kits produced for ^{99m}Tc seems to be a suitable solution for [^{68}Ga]Ga-MAA labelling;

- ^{68}Ga eluate

^{68}Ga eluate obtained from currently available generators are contaminated with long-lived parent nuclide ^{68}Ge and cationic metal ion impurities such as titanium (Ti^{4+}) from the column material, zinc (Zn^{2+}) from the decay of ^{68}Ga or iron (Fe^{3+}). These impurities might compete with ^{68}Ga in the complexation reaction [40,41].

Pre-purification of the eluate has been proposed by several groups, with various methods such as anion exchange chromatography, cationic cartridge, fractionation or eluate pre-concentration (Table 1) proposed to overcome this issue. Most groups performed an eluate pre-purification using an SCX cartridge or an equivalent pre-conditioned with hydrochloric acid (HCl) and water (Table 1).

In contrast, a few groups did not perform ^{68}Ga eluate pre-purification before MAA labelling and obtained ^{68}Ge impurity levels lower than 0.0001% and radiolabelling yields superior to 96.0% (Table 1) [28,29,34,39]. Based on these results and the fact that this is time-consuming, the pre-purification of the ^{68}Ga eluate does not seem mandatory and could be avoided for [^{68}Ga]Ga-MAA preparation.

- Labelling conditions

The three key points of the MAA labelling with ^{68}Ga are the pH, the heating temperature, and the reaction medium's heating time (Figure 1).

Among the various [^{68}Ga]Ga-MAA labelling processes published, the labelling pH ranges from 3 to 6.5, with the radiolabelling yield varying from 65.0 to 97.4% (decay corrected or not) (Table 1). The optimal pH range seems to be between 4 and 6.5, where ^{68}Ga is a water-soluble cation [14]. Importantly, it has been shown that Ga does not bind to albumin at a pH above 7 [19]. For assessing the optimal pH for the labelling reaction, three buffers or equivalents have been used: acetate buffer, sodium acetate solution and HEPES buffer (Table 1). HEPES and acetate buffers are biocompatible with no toxicity issue [40]. They have demonstrated better characteristics to stabilize and prevent $^{68}\text{Ga}(\text{III})$ precipitation and colloid formation [40]. Nevertheless, in contrast to sodium acetate, HEPES is not approved for human use, and thus, purification and additional quality control analyses are required, resulting in further time and resource consumption [40].

The labelling temperatures reported in the literature ranged from 40 °C to 115 °C (Table 1). Whatever the labelling conditions, the radiolabelling yields were superior to 75.0% in all but one study (Table 1). Several studies have tested various labelling conditions

and obtained increasing radiolabelling yield by increasing the heating temperature (from 25 to 100 °C, pH: 4–6) [29,38]. On the other hand, low heating temperature (40–70 °C) has been described to preserve MAA structure and size because high temperatures may induce the rupture of bigger macroaggregates [34,36,39]. Accordingly, the heating temperature range seems quite large, as long as MAA integrity is maintained.

Finally, the labelling heating time ranged from 5 to 20 min (Table 1). Some studies have compared various heating times (from 3 to 50 min) and found higher labelling yields with heating times between 7 and 20 min [31,38,39]. Due to the short half-life of ^{68}Ga and for practical considerations, the heating step should be as short as possible.

^{68}Ga Ga-MAA purification

Many authors have shown that the final product RCP was improved by performing a purification step at the end of the labelling (Table 2). Various processes were used to purify [^{68}Ga]Ga-MAA suspension. The most commonly used process was to wash the labelled MAA with saline and centrifuge to isolate [^{68}Ga]Ga-MAA particles. Another process was to increase the reaction mixture to 10 mL with sterile water at the end of the heating step and to pass the suspension through a Sep-Pak C18 cartridge. Then, the cartridge was washed two times with sterile water. The RCP of the obtained final product was superior to 97% (Table 2).

Table 2. Process of [^{68}Ga]Ga-MAA purification and radiochemical purity according to the various authors.

	[^{68}Ga]Ga-MAA Purification Conditions		Radiochemical Purity (%)
	Process of Purification	Manual/Automated	
Maziere et al. [31]	Centrifugation	Manual	99.9
Even and Green [24]	Centrifugation	Manual	89.0 ± 5.0–98.4 ± 0.3
Mathias et al. [28]	Centrifugation	Manual	99.8 ± 0.1
Maus et al. [32]	Sep-Pak C ₁₈ cartridge	Manual	>97.0
Ament et al. [33]	Centrifugation	Manual	>97.0
Amor-Coarasa et al. [34]	Centrifugation	Manual	>95.0
Jain et al. [29]	Centrifugation	Manual	98.0 ± 0.8
Mueller et al. [35]	No purification		>95.0
Shannehsazzadeh et al. [22]	Centrifugation	Manual	100.0
Persico et al. [36]	No purification		97.0
Gultekin et al. [37]	Centrifugation	Manual	99.0
Ayşe et al. [38]	No purification		99.0
Blanc-Béguin et al. [39]	Filtration	Automated	99.0 ± 0.6

While purification processes have only been manual to date, an innovative automated procedure was recently proposed for the purification step using a low protein-binding filter. At the end of the heating step, the reaction medium was passed through the filter from the bottom. Then, [^{68}Ga]Ga-MAA was removed from the filter and transferred into the final vial by passing 10 mL of saline from the top to the bottom of the filter (see Figure 2) [39]. The RCP of the obtained [^{68}Ga]Ga-MAA suspension was 99.0 ± 0.6%.

- Manual or Automated Process

Most of the [^{68}Ga]Ga-MAA preparation processes described in the literature were manual and were carried out in 20 to 40 min (See Table 1) [28,31,32]. Mueller et al. showed that an automated process reduced the preparation time from 20 to 14 min [35]. A few automated processes were described in the literature to perform the synthesis from the elution to the end of the heating steps (see Table 1). More recently, a fully automated process has been proposed, including both MAA labelling and [^{68}Ga]Ga-MAA purification, which was carried out in 15 min (see Tables 1 and 2) [39]. To the best of our knowledge, this is the only fully automated process to date.

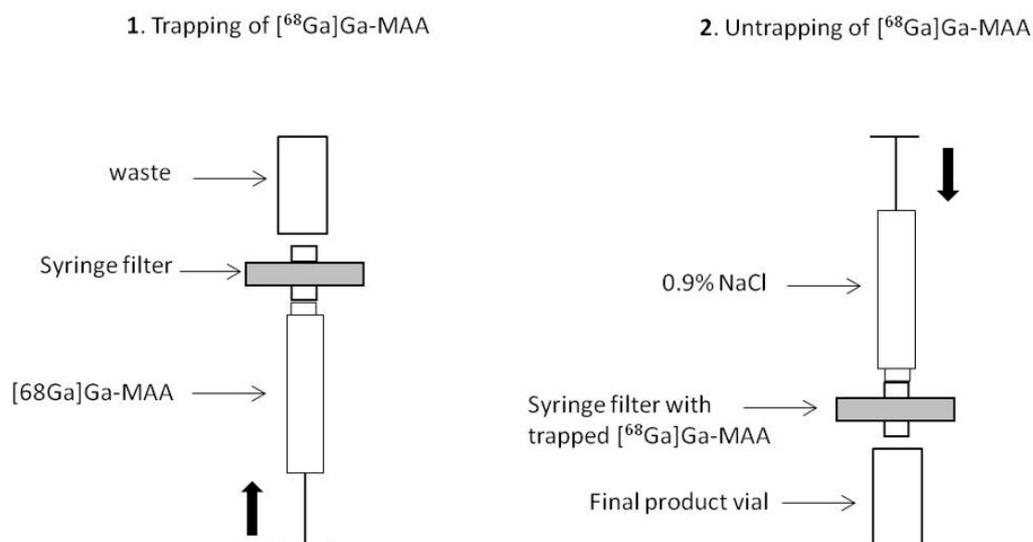


Figure 2. Schematic representation of the $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-MAA}$ purification stage based on the process by Blanc-Béguin et al. Used with permission from Blanc-Béguin et al. [39].

3.2.3. Pharmacological Aspects

An important challenge of the switch from $^{99\text{m}}\text{Tc}$ - to ^{68}Ga -labelled MAA is maintaining the pharmacological properties of particles to ensure similar biodistribution throughout the terminal pulmonary arterioles. Accordingly, the key parameter is the particle size, which should range between 10.0 and 90.0 μm , with no particles size superior to 150.0 μm . On the other hand, particles should not be inferior to 10.0 μm because the target organs would be the reticuloendothelial system and the bones instead of the lungs [22]. Most of the literature data reported a mean diameter ranging from 10 to 90 μm (15.0–75.0 μm for Blanc-Béguin et al., 52.9 ± 15.2 for Jain et al. and 43.0–51.0 for Canziani et al.) (Table 3) [18,29,39]. Furthermore, all published data on $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-MAA}$ described a preserved structure of radiolabelled particles, whatever the labelling conditions (see Table S1).

Hence, $[^{99\text{m}}\text{Tc}]\text{Tc-MAA}$ and $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-MAA}$ particles have similar sizes and structures. The number of $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-MAA}$ particles injected should range from 60,000 to 700,000, no differently from $[^{99\text{m}}\text{Tc}]\text{Tc-MAA}$, to obtain uniform distribution of activity reflecting regional perfusion.

All studies that assessed the biodistribution of labelled MAA particles in the animals described an almost complete retainment of activity in the lungs from 5 min to 30, 45, 60 min, or 4 h after the injection of $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-MAA}$ particles, and very low activity in other organs, especially in the liver [22,29,33,34]. Indeed, experiments performed with rats or mice have shown that more than 80% of the injected activity was located in the lungs from 15 min to 4 h post-injection [22,29,34]. In female wild-type rats, the peak of activity occurred 1 min and 35 min post-injection in the kidneys and bladder, respectively, whereas it was from 10 to 20 min in the lungs [22]. In Sprague-Dawley rats, less than 2% of the injected dose per organ (ID/o) activity was measured in other organs from 2 to 4 h post- $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-MAA}$ administration in the tail vein [34]. It is noteworthy that, as compared with the $[^{99\text{m}}\text{Tc}]\text{Tc-MAA}$, $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-MAA}$ exhibited better *in vivo* stability after intravenous injection in Sprague-Dawley rats [34]. Indeed, the percentage of decay-corrected ID/o (DC-ID/o) of $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-MAA}$ located in the lung did not change over the study period, i.e., the 4 h following the injection (98.6 ± 0.7 at 2 h and 98.6 ± 0.1 at 4h), whereas the % DC-ID/o of $[^{99\text{m}}\text{Tc}]\text{Tc-MAA}$ located in the lung decreased from 86.6 ± 0.7 at 2 h to 79.2 ± 1.5 at 4 h [34]. After injection in the rat tail vein, the main activity was extracted by the kidneys to the bladder, and the free ^{68}Ga remained in the blood after two and four hours ($84.9 \pm 4.5\%$ and $63.1 \pm 3.9\%$ of DC-ID/o, respectively), presumably as ^{68}Ga native transferrin complex [22,34].

Table 3. Summary of important factors of the switch from ^{99m}Tc to ^{68}Ga .

		^{99m}Tc]Tc-MAA	^{68}Ga]Ga-MAA
Labelling conditions			
	pH	6	4–6.5
	Heating temperature ($^{\circ}\text{C}$)	Room temperature	40–115 $^{\circ}\text{C}$
	Heating time (min)	0	5–20 min
	Total labelling time	20 min	15–40 min
Size			
	μm	10.0–90.0	15.0–75.0
Labelled MAA suspension stability			
	hours	8	3
Labelled MAA in vitro serum stability			
	hours	24	1
Biodistribution		In humans	In animals
Lungs uptake	%	98.0 [23]	
	time	Immediately after injection	
	%	86.6 \pm 0.7 [34]	98.6 \pm 0.7 [34]
	time	2 h post-injection	
Kidney uptake	%	3.6 \pm 2.1 [23]	1.6 \pm 0.4 (right kidney), 1.4 \pm 0.2 (left kidney) [34]
	time	3 h after injection	4 h after injection
Bladder uptake	%	5.1 \pm 4.0	14 \pm 1.7
	time	3 h after injection	4 h after injection [34]
Stomach uptake	%	3.5 \pm 2.5	
	time	4.4 after injection	

$^{68}\text{Ga}(\text{III})$ has a high binding affinity to the blood serum protein transferrin ($\log K_1 = 20.3$). The main requirement for ^{68}Ga]Ga-MAA stability is thermodynamic stability towards hydrolysis and formation of $\text{Ga}(\text{OH})_3$ [42]. As shown in Table 3, whatever the labelling conditions, the obtained ^{68}Ga]Ga-MAA suspension had at least a 45 min in vitro stability in animal serum or plasma, which is largely sufficient given that images are acquired immediately after injection and that the acquisition time is approximately 5 min [33].

To the best of our knowledge, no data were published on the biodistribution of ^{68}Ga]Ga-MAA in humans. However, Ament et al., who performed an exploratory study on five patients with clinical suspicion of PE who underwent V/Q PET/CT, have observed that perfusion imaging was homogeneous in most cases [33]. No significant retention and no visual uptake of ^{68}Ga]Ga-MAA particles in the liver were detectable [33].

However, many clinical studies reported consistent activity distribution on PET imaging in various pulmonary conditions after injection of ^{68}Ga]Ga-MAA [1,5,8,33,35,43].

4. Lung Ventilation Imaging

4.1. Aerosolized ^{99m}Tc -Labelled Carbon Nanoparticles (Technegas)

4.1.1. Physical and Chemical Aspects

^{99m}Tc -labelled carbon nanoparticles consist of primary hexagonally structured carbon nanoparticles, which can agglomerate into larger secondary aggregates. Primary nanoparticles are structured with graphite planes oriented parallel to the technetium surface to form nanoparticles with a thickness of about 5 nm [44]. Few data are available about the link

between ^{99m}Tc and carbon nanoparticles. It was hypothesized that Tc^{7+} obtained from a $^{99}\text{Mo}/^{99m}\text{Tc}$ generator was reduced at the crucible interface, resulting in native metal Tc which co-condensates with carbon species once in the vapor phase [44].

Some authors have hypothesized that ^{99m}Tc -labelled carbon nanoparticles consisted of ^{99m}Tc atoms trapped by a structure similar to a fullerene cage [45,46]. Indeed, Mackey et al. have demonstrated the presence of fullerenes during the generation of the aerosolized ^{99m}Tc -labelled carbon nanoparticles available to form metallofullerenes with the ^{99m}Tc atom attached either exohedrally or endohedrally to the fullerene molecules [46]. However, this hypothesis was controversial especially because of the hexagonal platelet structure of the labelled carbon nanoparticles [44].

4.1.2. Technical Aspects

The ^{99m}Tc -labelled carbon nanoparticle production is a simple process that requires relatively little material: a $^{99}\text{Mo}/^{99m}\text{Tc}$ generator, a Technegas generator (Cyclomedica Pty Ltd., Kingsgrove, Australia) and a pure argon bottle. There are three main stages in ^{99m}Tc -labelled carbon nanoparticle production: the loading of the crucible, the simmer stage and the burning stage.

- Crucible loading

Using a syringe with a needle, 0.14 mL to 0.30 mL (140–925 MBq) of ^{99m}Tc eluate is introduced in a graphite crucible previously humidified with 99% ethanol to increase its wettability and placed between the generator electrodes [6,47–51]. As the volume of the crucible is limited to 0.14 mL or 0.30 mL according to the supplier, it is possible to perform several crucible loadings to introduce all the ^{99m}Tc eluate needed;

- Simmer stage

The simmer stage, performed immediately after the crucible loading, reduces $^{99m}\text{Tc}^{7+}$ to metallic ^{99m}Tc under a pure argon atmosphere [44]. The use of pure argon is a determining parameter for the structure and the physical properties of the ^{99m}Tc -labelled carbon nanoparticles [45,48,52–54]. During the simmer stage, the graphite crucible is heated for 6 min at 70 °C. However, it has been shown that increasing the number of simmers increases the median size of the ^{99m}Tc -labelled carbon nanoparticles [45];

- Burning stage

The simmer cycle is followed by the crucible heating to 2550 °C \pm 50 °C for 15 s. Metallic Tc and carbon species are vaporized and co-condensed during this burning stage to obtain aerosolized ^{99m}Tc -labelled carbon nanoparticles [44]. At the end of this stage, the switching off of the Technegas generator fills the 6 L chamber with aerosolized ^{99m}Tc -labelled carbon nanoparticles ready for use via inhalation by the patient.

All process parameters (heating temperature and time) used for clinical production are fixed. The machine allows a 10 min window in which the ^{99m}Tc -labelled carbon nanoparticles may be administered to the patient. However, the longer the administration delay is, the higher the median size of the particles is [45,51].

4.1.3. Pharmacological Aspects

The size of primary carbon nanoparticles ranges from 5 to 60 nm, while the size of the aggregates is approximately 100–200 nm (See Table 4). Hence, aerosolized ^{99m}Tc -labelled carbon nanoparticles are considered an ultrafine aerosol with ventilation properties similar to radioactive gasses, such as krypton-81m (^{81m}Kr) and xenon-133 (^{133}Xe) [21,47,48,50,51,55–57]. Many authors agree on the mainly alveolar deposition of the ^{99m}Tc -labelled carbon nanoparticles and the stability of the nanoparticles in the lungs over time [21,45,49,57,58].

Table 4. ^{99m}Tc and ^{68}Ga -labelled carbon nanoparticle size, shape and structure according to the literature.

		Labelled Carbon Primary Nanoparticle Size (nm)	Labelled Carbon Secondary Aggregate Size (nm)	Count Median Diameter (nm)	Labelled Carbon Nanoparticle Thickness (nm)	Shape, Structure and Properties	Physical Properties
^{99m}Tc labelling	Burch et al. [47]		≤ 5.0				
	Strong et al. [58]			140.0 ± 1.5			
	Isawa et al. [49]		≤ 200.0				
	Lemb et al. [59]	12.5 ± 1.65 (7–23)	118.0 (60–160)			Primary hexagonally structured graphite particles	Hydrophobic properties. Inert properties
	Mackey et al. [46]					Fullerenes	
	Lloyd et al. [45]		100.0–300.0	158.0 ± 1.5			
	Senden et al. [44]	30.0–60.0			5.0	Thin hexagonal platelets with graphite planes oriented parallel to the Tc surface	Biological inertness
	Möller et al. [57]	10.0	100.0–200.0				Hygroscopic properties
	Pourchez et al. [51]	40.0 ± 2.9				Hexagonal platelets of metallic technetium closely encapsulated with a thin layer of graphitic carbon	Hygroscopic properties
	Blanc-Béguin et al. [60]	20.9 ± 7.2				Thin hexagonal platelets with graphite planes oriented parallel to the Tc surface	
^{68}Ga labelling	Blanc-Béguin et al. [60]	22.4 ± 10	Several hundreds			Hexagonal shape Layered structure	

4.2. Aerosolized ^{68}Ga -Labelled Carbon Nanoparticles

4.2.1. Physical and Chemical Aspects

The physical properties of aerosolized particles are important parameters in determining their penetration, deposition, and retention in the respiratory tract. The physical properties of ^{68}Ga -labelled carbon nanoparticles, prepared using a Technegas generator in the usual clinical way, were recently assessed [60]. ^{68}Ga -labelled carbon nanoparticles demonstrated similar properties as $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -labelled carbon nanoparticles, with primary hexagonally shaped and layered structured particles [60]. Although the chemical process of labelling carbon nanoparticles with ^{68}Ga and the exact chelation structure of ^{68}Ga in carbon nanoparticles are unknown, the physical properties of ^{68}Ga -labelled carbon nanoparticles suggest a method of labelling similar to labeling with $^{99\text{m}}\text{Tc}$.

4.2.2. Technical Aspects

In contrast with MAA labelling, the process for $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -labelled carbon nanoparticle preparation is very similar across studies in the literature. ^{68}Ga -labelled carbon nanoparticles are produced using an unmodified Technegas generator and following the same stages as for the preparation of $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -labelled carbon nanoparticles: the crucible loading with an eluate volume range from 0.14 mL to 0.30 mL, the simmer stage and the burning stage with similar heating time and temperature [6,7,33,60–62]. The only difference is the nature of the eluate, which is gallium-68 chloride ($^{68}\text{GaCl}_3$) instead of $^{99\text{m}}\text{TcO}_4^-$, Na^+ . Few authors performed an eluate pre-concentration using an anion exchange cartridge or by fractionating to purify and reduce the volume of the eluate [33,62]. However, ^{68}Ga -labelled carbon nanoparticles obtained using an unmodified eluate from the $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ generator demonstrated similar physical properties as $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -labelled carbon nanoparticle properties and were suitable for pulmonary ventilation PET/CT [6,7,60,61].

4.2.3. Pharmacological Aspects

From the pharmacological point of view, an important parameter of the switch from lung ventilation SPECT to PET/CT is to maintain the physical properties of aerosolized carbon nanoparticles to ensure similar alveolar deposition and stability in the lungs.

The size is a key factor in determining the degree of aerosol particle penetration in the human pulmonary tract [55]. To the best of our knowledge, only one recently published work has studied the physical properties of ^{68}Ga -labelled carbon nanoparticles, and few pharmacological data are available in the literature. However, it was reported that using an unmodified Technegas generator, the mean diameter of primary ^{68}Ga -labelled carbon nanoparticles was in the same range as primary $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -labelled carbon nanoparticles (22.4 ± 10.0 nm and 20.9 ± 7.2 nm, respectively) with similar agglomeration into larger secondary aggregates measuring several hundreds of nm [60].

These results suggested similar lung distribution of $^{99\text{m}}\text{Tc}$ - and ^{68}Ga -labelled carbon nanoparticles, as confirmed by a study on healthy piglets [62]. Later, V/Q PET performed in Sprague-Dawley rats reported complete incorporation of ^{68}Ga -labelled carbon nanoparticles in the lungs without extrapulmonary activity (urinary bladder, abdomen, blood pool) [33]. Moreover, animal studies performed with aerosolized ^{68}Ga -labelled carbon nanoparticles have demonstrated greater differences between poorly and well-ventilated regions, suggesting higher resolution than $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -labelled carbon nanoparticles [62].

Moreover, in healthy human volunteers, the activity distribution in the lungs after inhalation of ^{68}Ga -labelled carbon nanoparticles was intense, without bronchial deposit 15 min after the inhalation. Furthermore, the activity (decay corrected) over the lung was constant at 3.5 h without elimination via blood, urine (only trace radioactivity in urine bladder was observed) or feces suggesting the stability of the deposition of ^{68}Ga -labelled carbon nanoparticles over this time [7]. Another exploratory study performed on five patients with clinical suspicion of PE observed homogeneous ventilation imaging in two cases and inhomogeneous accumulation with central deposition of labelled carbon nanoparticles in three cases [33].

Finally, many clinical studies reported consistent activity distribution in the lungs on PET imaging in various pulmonary conditions after inhalation of ^{68}Ga -labelled carbon nanoparticles [5,6,8,33].

5. Practical Considerations for an Optimal Clinical Use

Lung V/Q PET/CT is a promising imaging modality for regional lung function assessment. Indeed, PET imaging has great technical advantages over SPECT imaging (higher sensitivity, spatial and temporal resolution, superior quantitative capability, easier to perform respiratory-gated acquisition). PET may also be a useful alternative to SPECT imaging in a $^{99\text{m}}\text{Tc}$ shortage. The success of the switch from conventional scintigraphy to PET imaging, and therefore from $^{99\text{m}}\text{Tc}$ - to ^{68}Ga -labelled radiopharmaceuticals, relies on two main factors: preserving the pharmacological properties of the labelled MAA and carbon nanoparticles, whose biodistribution is well known; and facilitating the implementation in nuclear medicine departments. In that respect, several studies have been conducted on the production of both perfusion and ventilation ^{68}Ga -labelled radiopharmaceuticals, which have led to simplification, optimization and, more recently, automation of the processes.

For lung perfusion PET/CT imaging, various processes have been used for [^{68}Ga]Ga-MAA labelling, with different options in the key steps of the preparation, including the choice of MAA particles, the need for ^{68}Ga eluate pre-purification, the labelling conditions or the [^{68}Ga]Ga-MAA suspension purification. However, simpler processes appear to be suitable for optimal clinical use. This includes using a non-modified commercially available MAA kit, with no need for a ^{68}Ga eluate pre-purification, use of an easy to use buffer such as sodium acetate solution, and a short reaction medium heating time (5 min). Automated processes have been developed to facilitate processing time and reduce the radiation dose to the operator. Thus, a simple and fast (15 min) automated GMP compliant [^{68}Ga]Ga-MAA synthesis process was proposed, using a non-modified MAA commercial kit, a ^{68}Ga eluate without pre-purification and including an innovative process for [^{68}Ga]Ga-MAA purification, which maintains the pharmacological properties of the tracer and provided labelling yields >95% [39]. Moreover, whatever the labelling conditions, the obtained [^{68}Ga]Ga-MAA suspension was described to be stable in 0.9% sodium chloride for at least one hour [35,39]. Given the radioactive concentration of [^{68}Ga], Ga-MAA obtained at the end of the synthesis (i.e., from 300MBq/10 mL to 900 MBq/10 mL according to the age of the $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ generator) and the dose injected (i.e., around 50 MBq), up to 6 perfusion PET/CT scans can be performed with one synthesis [5,6,39,63].

For lung ventilation PET/CT imaging, preparing and administering aerosolized ^{68}Ga -labelled carbon nanoparticles is very straightforward. The process is very similar to the production of $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -labelled carbon nanoparticles and, therefore, fairly easy to implement in nuclear medicine facilities. Indeed, adding a ^{68}Ga eluate instead of $^{99\text{m}}\text{Tc}$ eluate in the carbon crucible of an unmodified commercially available TechnegasTM generator provides carbon nanoparticles with similar physical properties. Furthermore, recently, an automated process included a step to fractionate the ^{68}Ga eluate into two samples, one for [^{68}Ga]Ga-MAA labelling and the other for aerosolized ^{68}Ga -labelled carbon nanoparticle production, which has been developed [39].

Besides radiopharmaceutical production, many factors may facilitate the implementation of V/P PET/CT imaging in nuclear medicine facilities. $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ generators are increasingly available in the nuclear medicine departments due to ^{68}Ga tracers for neuroendocrine tumors and prostate cancer imaging. PET/CT cameras are also increasingly accessible due to the development of digital PET/CT cameras and might be total-body PET/CT in the future. Most nuclear medicine facilities already have the necessary equipment to carry-out V/P PET/CT imaging, including carbon nanoparticle generators and MAA kits. Automating the MAA labelling is now possible; commercial development of ready-to-use sets for automated synthesis radiolabelling of ^{68}Ga -MAA would be of interest.

In conclusion, recent data support the ease of using well-established carrier molecules and ^{68}Ga to enable the switch from SPECT to PET imaging for regional lung function.

The technology may be easily implemented in most nuclear medicine facilities and open perspectives for the improved management of patients with lung disease.

Supplementary Materials: The following supporting information can be downloaded at: <https://www.mdpi.com/article/10.3390/ph15050518/s1>, Table S1: [⁶⁸Ga]Ga-MAA particles size and biodistribution study according to the various authors.

Author Contributions: Conceptualization, P.-Y.L.R. and F.B.-B.; formal analysis, F.B.-B.; data curation, F.B.-B.; writing—original draft preparation, F.B.-B. and P.-Y.L.R.; writing—review and editing, F.B.-B., S.H., P.R., R.T., P.-Y.S. and P.-Y.L.R.; visualization, F.B.-B. and P.-Y.L.R.; supervision, P.-Y.L.R., P.R. and P.-Y.S.; project administration, P.-Y.L.R. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research received no external funding.

Institutional Review Board Statement: Not applicable.

Informed Consent Statement: Not applicable.

Data Availability Statement: Not applicable.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

1. Le Roux, P.Y.; Siva, S.; Steinfort, D.P.; Callahan, J.; Eu, P.; Irving, L.B.; Hicks, R.J.; Hofman, M.S. Correlation of ⁶⁸Ga Ventilation-Perfusion PET/CT with Pulmonary Function Test Indices for Assessing Lung Function. *J. Nucl. Med. Off. Publ. Soc. Nucl. Med.* **2015**, *56*, 1718–1723. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
2. Bajc, M.; Schumichen, C.; Gruning, T.; Lindqvist, A.; Le Roux, P.Y.; Alatri, A.; Bauer, R.W.; Dilic, M.; Neilly, B.; Verberne, H.J.; et al. EANM guideline for ventilation/perfusion single-photon emission computed tomography (SPECT) for diagnosis of pulmonary embolism and beyond. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging* **2019**, *46*, 2429–2451. [[CrossRef](#)]
3. Le Roux, P.Y.; Blanc-Beguïn, F.; Bonnefoy, P.B.; Bourhis, D.; Camilleri, S.; Moreau-Triby, C.; Pinaquy, J.B.; Salaün, P.Y. Guide pour la rédaction de protocoles pour la scintigraphie pulmonaire. *Méd. Nucl.* **2021**, *45*, 8. [[CrossRef](#)]
4. Le Roux, P.Y.; Robin, P.; Salaun, P.Y. New developments and future challenges of nuclear medicine and molecular imaging for pulmonary embolism. *Thromb. Res.* **2018**, *163*, 236–241. [[CrossRef](#)]
5. Le Roux, P.Y.; Hicks, R.J.; Siva, S.; Hofman, M.S. PET/CT Lung Ventilation and Perfusion Scanning using Galligas and Gallium-68-MAA. *Semin. Nucl. Med.* **2019**, *49*, 71–81. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
6. Hofman, M.S.; Beaugregard, J.M.; Barber, T.W.; Neels, O.C.; Eu, P.; Hicks, R.J. ⁶⁸Ga PET/CT ventilation-perfusion imaging for pulmonary embolism: A pilot study with comparison to conventional scintigraphy. *J. Nucl. Med. Off. Publ. Soc. Nucl. Med.* **2011**, *52*, 1513–1519. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
7. Kotzerke, J.; Andreeff, M.; Wunderlich, G. PET aerosol lung scintigraphy using Galligas. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging* **2010**, *37*, 175–177. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
8. Le Roux, P.Y.; Iravani, A.; Callahan, J.; Burbury, K.; Eu, P.; Steinfort, D.P.; Lau, E.; Woon, B.; Salaun, P.Y.; Hicks, R.J.; et al. Independent and incremental value of ventilation/perfusion PET/CT and CT pulmonary angiography for pulmonary embolism diagnosis: Results of the PECAN pilot study. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging* **2019**, *46*, 1596–1604. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
9. Siva, S.; Thomas, R.; Callahan, J.; Hardcastle, N.; Pham, D.; Kron, T.; Hicks, R.J.; MacManus, M.P.; Ball, D.L.; Hofman, M.S. High-resolution pulmonary ventilation and perfusion PET/CT allows for functionally adapted intensity modulated radiotherapy in lung cancer. *Radiother. Oncol. J. Eur. Soc. Ther. Radiol. Oncol.* **2015**, *115*, 157–162. [[CrossRef](#)]
10. Le Roux, P.Y.; Leong, T.L.; Barnett, S.A.; Hicks, R.J.; Callahan, J.; Eu, P.; Manser, R.; Hofman, M.S. Gallium-68 perfusion positron emission tomography/computed tomography to assess pulmonary function in lung cancer patients undergoing surgery. *Cancer Imaging Off. Publ. Int. Cancer Imaging Soc.* **2016**, *16*, 24. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
11. Hicks, R.J.; Hofman, M.S. Is there still a role for SPECT-CT in oncology in the PET-CT era? *Nat. Rev. Clin. Oncol.* **2012**, *9*, 9. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
12. Papagiannopoulou, D. Technetium-99m radiochemistry for pharmaceutical applications. *J. Label. Compd. Radiopharm.* **2017**, *60*, 502–520. [[CrossRef](#)]
13. Liu, S.; Edwards, D.S. ^{99m}Tc-Labeled Small Peptides as Diagnostic Radiopharmaceuticals. *Chem. Rev.* **1999**, *99*, 2235–2268. [[CrossRef](#)]
14. Wadas, T.J.; Wong, E.H.; Weisman, G.R.; Anderson, C.J. Coordinating radiometals of copper, gallium, indium, yttrium, and zirconium for PET and SPECT imaging of disease. *Chem. Rev.* **2010**, *110*, 2858–2902. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
15. Dewanjee, M.K. The chemistry of ^{99m}Tc-labeled radiopharmaceuticals. *Semin. Nucl. Med.* **1990**, *20*, 5–27. [[CrossRef](#)]
16. Lin, M.S.; Winchell, H.S.; Shipley, B.A. Use of Fe(II) or Sn(II) alone for technetium labeling of albumin. *J. Nucl. Med.* **1971**, *12*, 8.

17. Vanbilloen, H.P.; Verbeke, K.A.; De Roo, M.J.; Verbruggen, A.M. Technetium-99m labelled human serum albumin for ventriculography: A comparative evaluation of six labelling kits. *Eur. J. Nucl. Med.* **1993**, *20*, 465–472. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
18. Canziani, L.; Marenco, M.; Cavenaghi, G.; Manfrinato, G.; Taglietti, A.; Girella, A.; Aprile, C.; Pepe, G.; Lodola, L. Chemical and Physical Characterisation of Macroaggregated Human Serum Albumin: Strength and Specificity of Bonds with ^{99m}Tc and ^{68}Ga . *Molecules* **2022**, *27*, 404. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
19. Marenco, M.; Canziani, L.; De Matteis, G.; Cavenaghi, G.; Aprile, C.; Lodola, L. Chemical and Physical Characterisation of Human Serum Albumin Nanocolloids: Kinetics, Strength and Specificity of Bonds with ^{99m}Tc and ^{68}Ga . *Nanomaterials* **2021**, *11*, 1776. [[CrossRef](#)]
20. Hunt, A.P.; Frier, M.; Johnson, R.A.; Berezenko, S.; Perkins, A.C. Preparation of Tc-99m-macroaggregated albumin from recombinant human albumin for lung perfusion imaging. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **2006**, *62*, 26–31. [[CrossRef](#)]
21. Schembri, G.P.; Roach, P.J.; Bailey, D.L.; Freeman, L. Artifacts and Anatomical Variants Affecting Ventilation and Perfusion Lung Imaging. *Semin. Nucl. Med.* **2015**, *45*, 373–391. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
22. Shanehsazzadeh, S.; Jalilian, A.R.; Lahooti, A.; Geramifar, P.; Beiki, D.; Yousefnia, H.; Rabiee, A.; Mazidi, M.; Mirshojaei, S.F.; Maus, S. Preclinical Evaluation of ^{68}Ga -MAA from Commercial Available ^{99m}Tc -MAA Kit. *Iran. J. Pharm. Res. IJPR* **2017**, *16*, 1415–1423. [[PubMed](#)]
23. Malone, L.A.; Malone, J.F.; Ennis, J.T. Kinetics of technetium 99m labelled macroaggregated albumin in humans. *Br. J. Radiol.* **1983**, *56*, 109–112. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
24. Even, G.A.; Green, M.A. Gallium-68-labeled macroaggregated human serum albumin, ^{68}Ga -MAA. *Int. J. Radiat. Appl. Instrum. Part B Nucl. Med. Biol.* **1989**, *16*, 319–321. [[CrossRef](#)]
25. Watanabe, N.; Shirakami, Y.; Tomiyoshi, K.; Oriuchi, N.; Hirano, T.; Yukihiko, M.; Inoue, T.; Endo, K. Indirect labeling of macroaggregated albumin with indium-111 via diethylenetriaminepentaacetic acid. *Nucl. Med. Biol.* **1996**, *23*, 595–598. [[CrossRef](#)]
26. Hnatowich, D.J. Labeling of tin-soaked albumin microspheres with ^{68}Ga . *J. Nucl. Med. Off. Publ. Soc. Nucl. Med.* **1976**, *17*, 57–60.
27. Velikyan, I. Prospective of ^{68}Ga -radiopharmaceutical development. *Theranostics* **2014**, *4*, 34. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
28. Mathias, C.J.; Green, M.A. A convenient route to [^{68}Ga]Ga-MAA for use as a particulate PET perfusion tracer. *Appl. Radiat. Isot. Incl. Data Instrum. Methods Use Agric. Ind. Med.* **2008**, *66*, 1910–1912. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
29. Jain, A.; Subramanian, S.; Pandey, U.; Sarma, H.D.; Ram, R.; Dash, A. In-house preparation of macroaggregated albumin (MAA) for ^{68}Ga labeling and its comparison with commercially available MAA. *J. Radioanal. Nucl. Chem.* **2016**, *308*, 817–824. [[CrossRef](#)]
30. Hayes, R.L.; Carlton, J.E.; Kuniyasu, Y. A new method for labeling microspheres with ^{68}Ga . *Eur. J. Nucl. Med.* **1981**, *6*, 531–533. [[CrossRef](#)]
31. Maziere, B.; Loc'h, C.; Steinling, M.; Comar, D. Stable labelling of serum albumin microspheres with gallium-68. *Int. J. Radiat. Appl. Instrum. Part A Appl. Radiat. Isot.* **1986**, *37*, 360–361. [[CrossRef](#)]
32. Maus, S.; Buchholz, H.G.; Ament, S.; Brochhausen, C.; Bausbacher, N.; Schreckenberger, M. Labelling of commercially available human serum albumin kits with ^{68}Ga as surrogates for ^{99m}Tc -MAA microspheres. *Appl. Radiat. Isot. Incl. Data Instrum. Methods Use Agric. Ind. Med.* **2011**, *69*, 171–175. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
33. Ament, S.J.; Maus, S.; Reber, H.; Buchholz, H.G.; Bausbacher, N.; Brochhausen, C.; Graf, F.; Miederer, M.; Schreckenberger, M. PET lung ventilation/perfusion imaging using ^{68}Ga aerosol (Galligas) and ^{68}Ga -labeled macroaggregated albumin. *Recent Results Cancer Res.* **2013**, *194*, 395–423.
34. Amor-Coarasa, A.; Milera, A.; Carvajal, D.; Gulec, S.; McGoron, A.J. Lyophilized Kit for the Preparation of the PET Perfusion Agent [^{68}Ga]-MAA. *Int. J. Mol. Imaging* **2014**, *2014*, 269365. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
35. Mueller, D.; Kulkarni, H.; Baum, R.P.; Odparlik, A. Rapid Synthesis of ^{68}Ga -labeled macroaggregated human serum albumin (MAA) for routine application in perfusion imaging using PET/CT. *Appl. Radiat. Isot. Incl. Data Instrum. Methods Use Agric. Ind. Med.* **2017**, *122*, 72–77. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
36. Persico, M.G.; Marenco, M.; De Matteis, G.; Manfrinato, G.; Cavenaghi, G.; Sgarella, A.; Aprile, C.; Lodola, L. ^{99m}Tc - ^{68}Ga -ICG-Labelled Macroaggregates and Nanocolloids of Human Serum Albumin: Synthesis Procedures of a Trimodal Imaging Agent Using Commercial Kits. *Contrast Media Mol. Imaging* **2020**, *2020*, 3629705. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
37. Gültekin, A.; Cayir, M.C.; Ugur, A.; Bir, F.; Yüksel, D. Detection of Pulmonary Embolism with Gallium-68 Macroaggregated Albumin Perfusion PET/CT: An Experimental Study in Rabbits. *Contrast Media Mol. Imaging* **2020**, *2020*, 5607951. [[CrossRef](#)]
38. Ayse, U.; Aziz, G.; Dogangun, Y. High-Efficiency Cationic Labeling Algorithm of Macroaggregated Albumin with ^{68}Ga . *Nucl. Med. Mol. Imaging* **2021**, *55*, 79–85. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
39. Blanc-Béguin, F.; Masset, J.; Robin, P.; Tripiet, R.; Hennebicq, H.; Guilloux, V.; Vriamont, C.; Wagnier, C.; Cogulet, V.; Eu, P.; et al. Fully automated ^{68}Ga -labeling and purification of macroaggregated albumin particles for lung perfusion PET imaging. *Front. Nucl. Med.* **2021**, *1*, 10. [[CrossRef](#)]
40. Velikyan, I. ^{68}Ga -Based radiopharmaceuticals: Production and application relationship. *Molecules* **2015**, *20*, 12913–12943. [[CrossRef](#)]
41. Zhernosekov, K.P.; Filosofov, D.V.; Baum, R.P.; Aschoff, P.; Bihl, H.; Razbash, A.A.; Jahn, M.; Jennewein, M.; Rosch, F. Processing of generator-produced ^{68}Ga for medical application. *J. Nucl. Med. Off. Publ. Soc. Nucl. Med.* **2007**, *48*, 1741–1748. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
42. Harris, W.R.; Pecoraro, V.L. Thermodynamic binding constants for gallium transferrin. *Biochemistry* **1983**, *22*, 292–299. [[CrossRef](#)]
43. Kotzerke, J.; Andreeff, M.; Wunderlich, G.; Wiggermann, P.; Zophel, K. Ventilation-perfusion-lungscintigraphy using PET and ^{68}Ga -labeled radiopharmaceuticals. *Nuklearmedizin. Nucl. Med.* **2010**, *49*, 203–208.

44. Senden, T.J.; Moock, K.H.; Gerald, J.F.; Burch, W.M.; Browitt, R.J.; Ling, C.D.; Heath, G.A. The physical and chemical nature of technegas. *J. Nucl. Med. Off. Publ. Soc. Nucl. Med.* **1997**, *38*, 1327–1333.
45. Lloyd, J.J.; Shields, R.A.; Taylor, C.J.; Lawson, R.S.; James, J.M.; Testra, H.J. Technegas and Pertechnegas particle size distribution. *Eur. J. Nucl. Med.* **1995**, *22*, 473–476. [[CrossRef](#)]
46. Mackey, D.W.; Burch, W.M.; Dance, I.G.; Fisher, K.J.; Willett, G.D. The observation of fullerenes in a Technegas lung ventilation unit. *Nucl. Med. Commun.* **1994**, *15*, 430–434. [[CrossRef](#)]
47. Burch, W.M.; Sullivan, P.J.; McLaren, C.J. Technegas—A new ventilation agent for lung scanning. *Nucl. Med. Commun.* **1986**, *7*, 865–871. [[CrossRef](#)]
48. Monaghan, P.; Provan, I.; Murray, C.; Mackey, D.W.; Van der Wall, H.; Walker, B.M.; Jones, P.D. An improved radionuclide technique for the detection of altered pulmonary permeability. *J. Nucl. Med. Off. Publ. Soc. Nucl. Med.* **1991**, *32*, 1945–1949.
49. Isawa, T.; Teshima, T.; Anazawa, Y.; Miki, M.; Motomiya, M. Technegas for inhalation lung imaging. *Nucl. Med. Commun.* **1991**, *12*, 47–55. [[CrossRef](#)]
50. Isawa, T.; Teshima, T.; Anazawa, Y.; Miki, M.; Soni, P.S. Technegas versus krypton-81m gas as an inhalation agent. Comparison of pulmonary distribution at total lung capacity. *Clin. Nucl. Med.* **1994**, *19*, 1085–1090.
51. Pourchez, J.; Albuquerque-Silva, I.M.D.; Cottier, M.; Clotagatide, A.; Vecellio, L.; Durand, M.; Dubois, F. Generation and characterization of radiolabelled nanosized carbonaceous aerosols for human inhalation studies. *J. Aerosol Sci.* **2013**, *55*, 1–11. [[CrossRef](#)]
52. Scalzetti, E.M.; Gagne, G.M. The transition from technegas to pertechnegas. *J. Nucl. Med. Off. Publ. Soc. Nucl. Med.* **1995**, *36*, 267–269.
53. Mackey, D.W.; Jackson, P.; Baker, R.J.; Dasaklis, C.; Fisher, K.J.; Magee, M.; Bush, V.; Burch, W.M.; Van der Wall, H.; Willett, G.D. Physical properties and use of pertechnegas as a ventilation agent. *J. Nucl. Med. Off. Publ. Soc. Nucl. Med.* **1997**, *38*, 163–167.
54. Fanti, S.; Compagnone, G.; Pancaldi, D.; Franchi, R.; Corbelli, C.; Marengo, M.; Onofri, C.; Galassi, R.; Levorato, M.; Monetti, N. Evaluation of lung clearance of inhaled pertechnegas. *Ann. Nucl. Med.* **1996**, *10*, 147–151. [[CrossRef](#)]
55. Sanchez-Crespo, A. Lung Scintigraphy in the Assessment of Aerosol Deposition and Clearance. *Semin. Nucl. Med.* **2019**, *49*, 47–57. [[CrossRef](#)]
56. Hartmann, I.J.; Hagen, P.J.; Stokkel, M.P.; Hoekstra, O.S.; Prins, M.H. Technegas Versus 81mKr Ventilation–Perfusion Scintigraphy: A Comparative Study in Patients with Suspected Acute Pulmonary Embolism. *J. Nucl. Med. Off. Publ. Soc. Nucl. Med.* **2001**, *42*, 8.
57. Möller, W.; Felten, K.; Seitz, J.; Sommerer, K.; Takenata, S.; Wiebert, P.; Philipson, K.; Svartengren, M.; Kreyling, W.G. A generator for the production of radiolabelled ultrafine carbonaceous particles for deposition and clearance studies in the respiratory tract. *J. Aerosol Sci.* **2006**, *37*, 631–644. [[CrossRef](#)]
58. Strong, J.C.; Agnew, J.E. The particle size distribution of technegas and its influence on regional lung deposition. *Nucl. Med. Commun.* **1989**, *10*, 425–430. [[CrossRef](#)]
59. Lemb, M.; Oei, T.H.; Eifert, H.; Gunther, B. Technegas: A study of particle structure, size and distribution. *Eur. J. Nucl. Med.* **1993**, *20*, 576–579. [[CrossRef](#)]
60. Blanc-Beguín, F.; Elies, P.; Robin, P.; Tripiet, R.; Kervarec, N.; Lemarie, C.A.; Hennebicq, S.; Tromeur, C.; Cogulet, V.; Salaun, P.Y.; et al. ⁶⁸Ga-Labelled Carbon Nanoparticles for Ventilation PET/CT Imaging: Physical Properties Study and Comparison with Technegas®. *Mol. Imaging Biol.* **2021**, *23*, 62–69. [[CrossRef](#)]
61. Oehme, L.; Zophel, K.; Golgor, E.; Andreeff, M.; Wunderlich, G.; Brogsitter, C.; de Abreu, M.G.; Kotzerke, J. Quantitative analysis of regional lung ventilation and perfusion PET with ⁶⁸Ga-labelled tracers. *Nucl. Med. Commun.* **2014**, *35*, 501–510. [[CrossRef](#)]
62. Borges, J.B.; Velikyan, I.; Langstrom, B.; Sorensen, J.; Ulin, J.; Maripuu, E.; Sandstrom, M.; Widstrom, C.; Hedenstierna, G. Ventilation distribution studies comparing Technegas and “Gallgas” using ⁶⁸GaCl₃ as the label. *J. Nucl. Med. Off. Publ. Soc. Nucl. Med.* **2011**, *52*, 206–209. [[CrossRef](#)]
63. Bailey, D.L.; Eslick, E.M.; Schembri, G.P.; Roach, P.J. ⁶⁸Ga PET Ventilation and Perfusion Lung Imaging—Current Status and Future Challenges. *Semin. Nucl. Med.* **2016**, *46*, 428–435. [[CrossRef](#)]

ANNEXE 5: Ventilation Scintigraphy With
Radiolabeled Carbon Nanoparticulate
Aerosol (Technegas)
*State-of –the Art Review and Diagnostic
Applications to Pulmonary Embolism During
COVID-19 Pandemic*

Ventilation Scintigraphy With Radiolabeled Carbon Nanoparticulate Aerosol (Technegas)

State-of-the-Art Review and Diagnostic Applications to Pulmonary Embolism During COVID-19 Pandemic

Pierre-Yves Le Roux, MD, PhD,* Wolfgang M. Schafer, MD, PhD, †
Frédérique Blanc-Beguïn, PhD,* and Mark Tulchinsky, MD, FACNM, FSNMMI ‡

Abstract: Invented and first approved for clinical use in Australia 36 years ago, Technegas is the technology that enabled ventilation scintigraphy with ^{99m}Tc -labeled carbon nanoparticles (^{99m}Tc -CNP). The US Food and Drug Administration (FDA) has considered this technology for more than 30 years but only now is getting close to approving it. Meanwhile, more than 4.4 million patients benefited from this technology in 64 countries worldwide. The primary application of ^{99m}Tc -CNP ventilation imaging is the diagnostic evaluation for suspicion of pulmonary embolism using ventilation-perfusion quotient (V/Q) imaging. Because of ^{99m}Tc -CNP's long pulmonary residence, tomographic imaging emerged as the preferred V/Q methodology. The FDA-approved ventilation imaging agents are primarily suitable for planar imaging, which is less sensitive. After the FDA approval of Technegas, the US practice will likely shift to tomographic V/Q. The ^{99m}Tc -CNP use is of particular interest in the COVID-19 pandemic because it offers an option of a dry radioaerosol that takes approximately only 3 to 5 tidal breaths, allowing the shortest exposure to and contact with possibly infected patients. Indeed, countries where ^{99m}Tc -CNP was approved for clinical use continued using it throughout the COVID-19 pandemic without known negative viral transmission consequences. Conversely, the ventilation imaging was halted in most US facilities from the beginning of the pandemic. This review is intended to familiarize the US clinical nuclear medicine community with the basic science of ^{99m}Tc -CNP ventilation imaging and its clinical applications, including common artifacts and interpretation criteria for tomographic V/Q imaging for pulmonary embolism.

Key Words: aerosols, computed tomography, lung diagnostic imaging, lung physiology, multimodal imaging, nuclear medicine, PET, pulmonary embolism, pulmonary ventilation, radionuclide imaging, SPECT, ventilation-perfusion scintigraphy, X-ray

(*Clin Nucl Med* 2022;00: 00–00)

The nuclear medicine techniques for interrogating airway functionality are fundamental to understanding pulmonary physiology and are integral to assessing various pulmonary diseases.¹ One

of the most optimal and increasingly popular diagnostic techniques uses ^{99m}Tc -labeled carbon nanoparticles (^{99m}Tc -CNP) produced and aerosolized using a Technegas generator (Cyclomedica Australia, Sydney, Australia). Such an aerosol is generically called a “pseudogas,” which Burch et al² defined as near-monodisperse submicronic particles that diffuse in a gas-like manner without aggregation. Dr Burch invented this technology while working in the Nuclear Medicine Department of the Royal Canberra Hospital as a physicist in the early 1980s and at the John Curtin School of Medical Research as a faculty at the Australian National University in Canberra, Australia. He later joined an Australian commercial medical devices developer, Mr Ian Tetley (the Chairman of Tetley Technologies), who managed the successful commercialization of the generator and its disposable patient administration kit, which was first approved under the brand name Technegas in 1986 for clinical use in Australia, then receiving authorization for marketing in the European Union in 1996, followed in 2003 by the marketing approval in Canada, and at this time the device was approved for clinical use in 64 countries around the globe.

The first attempt to introduce a commercial pseudogas generator in the United States was in the early 1990s. The generator was initially demonstrated at the US Food and Drug Administration (FDA) in 1992, designed to produce a pseudogas with particle sizes substantially smaller than generated by the original protocol used with the current Technegas generator, which had a much faster pulmonary clearance rate. This ^{99m}Tc -CNP aerosol variation was named “pertechnegas,” and it was produced using the identical Technegas generator, but the standard high-purity (>99.9%) argon was substituted with the mixture of 97% argon and 3% oxygen.³ The manufacturer selected pertechnegas because they believed that a radiopharmaceutical with rapid body clearance would be more likely to gain a speedy FDA approval. The US nuclear medicine physicians primarily used planar imaging and were already used to ventilation agents with rapid washout (noble gases and liquid aerosols). However, this attempt never progressed to the formal new drug application submission to the FDA predominantly because all supporting clinical data were available for Technegas but not for pertechnegas.

The second interaction with the FDA began in 2001, and it was about the Technegas generator using the standard aerosol production methodology. After more than 20 years of FDA scrutiny, Technegas remains not approved in the United States despite untainted experience in 64 countries worldwide (no attributable serious adverse events ever recorded). It took the FDA until 2004 to designate this technology a “combination product,” assigning the drug (ie, ^{99m}Tc -CNP) to the drug-focused FDA branch while the other components (the Patient Administration Kit and the Technegas Generator) to the device-focused branch. In consultation with the FDA, the manufacturer set up the first phase 3 trial that ultimately concluded in 2007. However, the manufacturer and the FDA could

Received for publication June 6, 2022; revision accepted July 1, 2022.

From the *INSERM (National Institute of Health and Medical Research) and Department of Nuclear Medicine, University Hospital of Brest, CHRU Brest, UMR 1304, GETBO, Brest, France; †Nuclear Medicine Clinic, Maria Hilf Hospital Inc, Academic Teaching Hospital of RWTH Aachen University, Moechengladbach, Germany; and ‡Section of Nuclear Medicine, Department of Radiology, Penn State University Hospital, Hershey, PA.

P.-Y.L.R., W.M.S., and M.T. contributed equally, hence sharing co-first authorship. Conflicts of interest and sources of funding: none declared.

Correspondence to: Mark Tulchinsky, MD, FACNM, FSNMMI, Section of Nuclear Medicine, Department of Radiology, Penn State University Hospital, 500 University Drive, M. C. H066, Hershey, PA 17033. E-mail: Mark.Tulchinsky@gmail.com; Pierre-Yves Le Roux, CHRU Morvan, Médecine Nucléaire, 2 avenue Foch, 29200 Brest, France. E-mail: pierre-yves.leroux@chu-brest.fr.

Copyright © 2022 Wolters Kluwer Health, Inc. All rights reserved.

ISSN: 0363-9762/22/0000-0000

DOI: 10.1097/RLU.0000000000004426

not resolve their differences regarding the data adequacy to support the technology's effectiveness, leading eventually to the company's new drug application withdrawal in early 2009.

The third cycle of manufacturer-FDA interactions was initiated in the latter part of 2009. The new phase 3 trial was designed with guidance from the FDA. The design complexity explains the decade-long trial. On September 18, 2020, after the independent expert review panel unanimously voted to affirm that the study met its primary efficacy end point, the FDA deemed the trial completed (ie, successfully proving its objectives). US nuclear medicine professionals were flabbergasted to learn in June 2021 that despite the successful phase 3 trial and untainted clinical safety, the FDA issued a "Complete Response Letter" that conveyed nonapproval and further guidance. It is customary for the FDA and a company not to disclose specifics of what additional data are needed for approval. Regardless of what the FDA asked for, it is superfluous given the impeccable experience of more than 4.4 million patients worldwide in 64 countries using it without significant adverse effects. For example, a recent review spanning 2007–2016 of the British Nuclear Medicine Society's national database of Adverse Reactions (also known as Adverse Event in the US FDA parlance) amounted to a single patient who complained of "tingling" that was self-limiting and inconsequential.⁴ Rojas-Burke⁵ wrote with clairvoyance in the 1991 news article: "When, if ever, will the device that has won near-ubiquitous use in Australia gain approval for lung ventilation studies in the US?" More than 30 years later, the nuclear medicine community and the patients in the United States are still awaiting the FDA's approval with bated breath.

Since the beginning of the COVID-19 global pandemic, many US nuclear medicine physicians and technologists have collectively written 4 petitions to the FDA, emphasizing the safety advantages of ^{99m}Tc-CNP during the pandemic times.^{6,7} Liquid aerosols were well known to facilitate the spread of the virus. Many health care institutions in the United States prohibited their use, including nuclear medicine ventilation scanning with nebulized radiopharmaceuticals. The only alternative for ventilation scanning, ¹³³Xe, initially did not guarantee that delivery equipment was protected against viral contamination and potential for transmission. Later equipment modifications successfully mitigated this concern; however, ¹³³Xe use requires a negative pressure room that is not readily available in facilities accustomed to radioaerosols. The vast majority of the US physicians were experienced in interpreting ventilation-perfusion quotient (V/Q) scintigraphy and learned to rely on ventilation imaging for differentiating vascular causes for perfusion defects from others due to airway diseases. Nuclear medicine physicians and technologists concerned with possibly harmful consequences to patients from the inaccessibility of ventilation studies urged the FDA to promptly approve ^{99m}Tc-CNP, as a dry aerosol would not have a basis for the same concerns as the liquid aerosols. In many countries (including the authors' institutions in France and Germany), ^{99m}Tc-CNP V/Q scan application continued unabated throughout the pandemic because, in the best medical judgment of physicians, the risk of misdiagnosing pulmonary embolism (PE) without ventilation part of the scan is greater than the risk of COVID-19 transmission.^{8–10} This concern was recently substantiated by the retrospective study from France that showed the critical importance of ventilation imaging for the accurate interpretation of perfusion defects in patients with COVID-19.¹⁰ Paraphrasing the proverbial saying about Americans to the topic, US FDA will always do the right thing—after exhausting all the alternatives.¹¹ The above narration supports the conclusion that all the alternatives will be soon exhausted in response to whatever FDA asked for in the nonapproval letter. It is opportune time for the following comprehensive and practical information on why and how best to incorporate ^{99m}Tc-CNP aerosol ventilation imaging into US nuclear medicine practices, especially during the COVID-19 pandemic.

STATE-OF-THE-ART

Ventilation Agents' Essentials

Ventilation scintigraphy can be performed after inhaling radioactive isotopes in the form of either a noble gas or a radioaerosol. ¹³³Xe is the only radioactive noble gas available in the United States. It is still commonly used in V/Q scanning, a close second to ^{99m}Tc-labeled aerosols (43% vs 57%, respectively).¹² The long physical half-life (5.3 days) and low gamma photon energy are sub-optimal for gamma camera imaging. Limitations include poor image quality, and only 1 view of the lungs can usually be obtained on a single breath and equilibrium phases. However, additional obliques could be done during a more extended washout series. In contrast, ^{81m}Kr gas offers high-quality imaging and the option of performing simultaneous dual-isotope image acquisition of ventilation and perfusion. ^{81m}Kr also has the advantage of low-radiation absorbed dose (especially important for children and pregnant women) because of its short physical half-life of 13 seconds. However, the critical limitations of ^{81m}Kr are its high cost and low availability of the ⁸¹Rb generator.¹³

Two types of radioaerosols are used in ventilation imaging—liquid and dry. A liquid variety is produced using a nebulizer, whereas a dry kind can be generated by vaporizing a carbon crucible at high temperatures. The size of the particles has a predominant influence on their aerodynamic properties that determine their distribution and deposition within airways and alveoli. The 3 main mechanisms of particle deposition are inertial impaction, sedimentation, and diffusion.¹⁴ Inertial impaction occurs when particles are too large to keep their trajectory despite changes in the direction of the airflow and consequently collide with the walls of the respiratory tract, which contributes to the heterogeneous distribution and intense depositions of certain aerosols in central airways (also known as "hot spots" or "clumping"). This phenomenon worsens with the increasing size of particles and the airflow velocity in the respiratory tract. Hence, with their high airflow velocity, the proximal airways are the primary deposition site of larger particles, such as ^{99m}Tc-diethylenetriamine pentaacetate (DTPA) in normal saline nebulized to form larger liquid droplets that range in size from 0.5 to 2 μm.¹⁵ On the contrary, ^{99m}Tc-CNP can be made much smaller, as detailed in the following section, allowing them to diffuse through the Brownian motion (ie, random molecular collisions) and deposit by sedimentation according to the forces of gravity in the most distal airways where the airflow velocity is the lowest.

^{99m}Tc-CNP Physical Properties

^{99m}Tc-CNP nanoparticles are hydrophobic primary hexagonally structured CNPs (Fig. 1A) whose size ranges from 5 to 60 nm.^{16–19} Primary nanoparticles are structured with graphite planes oriented parallel to the technetium surface to form nanoparticles with a thickness of 5 nm and a mean diameter of 20.9 ± 7.2 nm.^{18,19} Primary CNPs can agglomerate into larger secondary aggregates, whose size is approximately 100 to 200 nm.^{17–20} The primary ^{99m}Tc-CNP nanoparticles are as much as 100 times smaller, and their aggregates are 5 times smaller than 500- to 2000-nm ^{99m}Tc-DTPA aerosol droplets.¹⁵

Because of the nano size of its particles, ^{99m}Tc-CNP undergoes the Brownian diffusion comparable to that of gas molecules.²¹ This permits deep penetration of particles to the nonconducting (ie, terminal) airways. Ventilation studies with ^{99m}Tc-CNP and ^{81m}Kr have provided nearly identical information.^{22–25} A normal ^{99m}Tc-CNP planar lung ventilation scintigraphy is shown in Figure 1B. The very limited formation of larger particles offers the greatest advantage over ^{99m}Tc-DTPA droplets. There is also less impaction of particles in the airways, leading to lesser "hot spot" (also known as "clumping") formation, especially in patients with obstructive airway diseases.²⁶

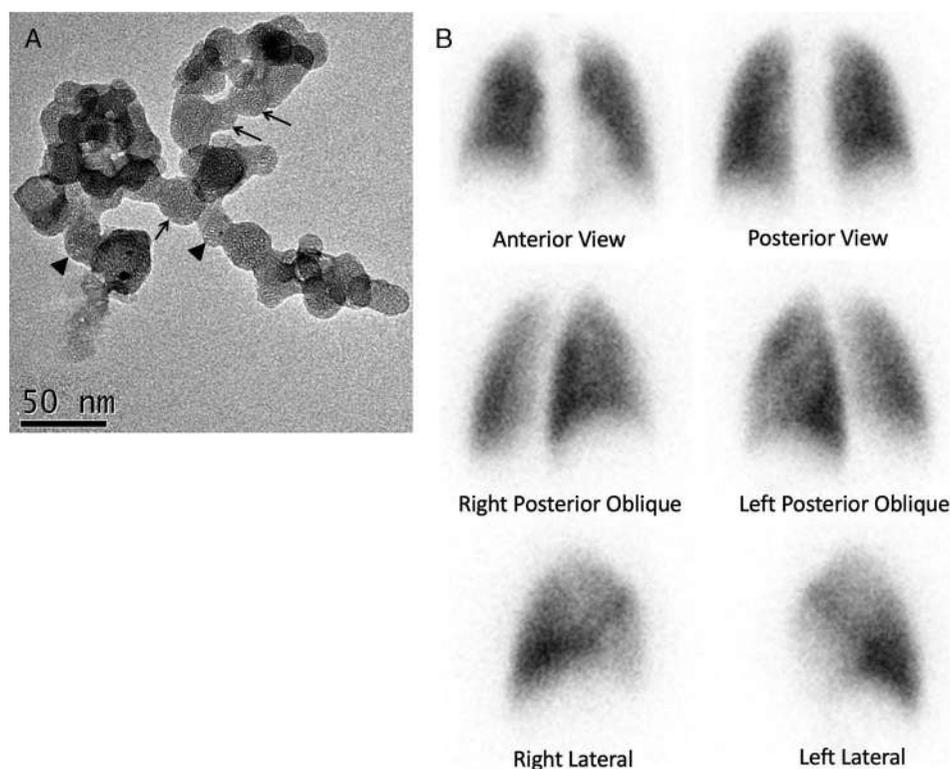


FIGURE 1. **A**, Transmission electron microscopy (TEM) view of primary ^{99m}Tc -labeled CNPs. TEM shows primary hexagonal particles (red hexagon and red arrows) agglomerated in clusters. The blue circle indicates the layered structure of some of the primary particles. **B**, Lung ventilation planar scintigraphy after administration of ^{99m}Tc -Technegas. Images show the homogenous distribution of ^{99m}Tc -Technegas within the lungs.

^{99m}Tc -CNP Aerosol Generation

^{99m}Tc -CNP production is a straightforward process requiring the following components: ^{99m}Tc pertechnetate in saline, a Technegas generator, a graphite crucible, brass contacts inlaid with carbon to ensure good electrical conductivity, and a high-purity argon gas bottle. More detailed and illustrated descriptions of the components are available from either the manufacturer's manual or the excellent recent review by Currie and Bailey.²⁷ In a facility with an available $^{99}\text{Mo}/^{99m}\text{Tc}$ generator, ^{99m}Tc pertechnetate is eluted with 5 mL of 0.9% NaCl, or it can be supplied from a central radiopharmacy. Using a syringe with a needle, up to 0.14 mL of ^{99m}Tc eluate (200–900 MBq) is introduced in a graphite crucible prehumidified with 99% ethanol and placed between the generator electrodes.²⁸ The Technegas generator operation is standardized for all process parameters, including heating temperature and duration. After loading the crucible, there are 2 stages in the ^{99m}Tc -labeled CNP production, called “simmer” and “burn.”

Simmer Stage

The simmer stage reduces the ^{99m}Tc valency in the eluate from $^{99m}\text{Tc}^{7+}$ to the metallic form ^{99m}Tc . For this purpose, the graphite crucible is heated for 6 minutes at 70°C. The simmer stage can be performed immediately after loading the crucible. As the crucible volume is limited, several simmering sessions can be conducted to increase the aerosol activity if the radioactive concentration of the ^{99m}Tc eluate is low. In this case, the crucible can be reloaded from the third minute of the simmer stage. However, Lloyd et al²⁰ have shown that increasing the number of simmers increases the median size of the ^{99m}Tc -labeled CNPs. The whole chamber is purged during this stage with pure argon, replacing the original room air.

Burn Stage

After the simmer cycle, the crucible is heated to 2750°C ± 100°C for 15 seconds in the high-purity argon atmosphere. The ^{99m}Tc and carbon vaporize and condense during this burn stage to form the aerosolized ^{99m}Tc -CNP.¹⁸ This pseudogas is captured in the 6-L chamber of the Technegas generator and ready for administration. ^{99m}Tc -CNP aerosol can be administered to a patient for up to 10 minutes after generation. But the longer the administration delay, the higher are the chances of compromising the image quality because of the particle size growth through coagulation (also known as agglomeration).^{20,28}

^{99m}Tc -CNP Administration

During the COVID-19 pandemic, the administration rehearsal is essential for assessing patients' compliance with various options before ^{99m}Tc -CNP administration to limit the potential risk of radioaerosol and viral contamination. A manual valve controls inhalation, and commercial PAL filters trap the exhaled radioactive particles during expiration. Patients with preexisting lung diseases (eg, asthma, emphysema, etc) should use their bronchodilators and other pulmonary medications to achieve optimal aerosol distribution. The ventilation procedure is best rehearsed immediately before the actual ^{99m}Tc -CNP administration. The rehearsal session is the time for selecting the optimal mouthpiece option or the mask and testing those selections for compliance. ^{99m}Tc -CNP is usually administered in a supine position.¹³ To allow a homogeneous diffusion of ^{99m}Tc -CNP aerosol to the alveoli, the patient would usually inhale slowly and hold their breath for 5 to 10 seconds at maximum inspiration. Generally, the flute or snorkel mouthpieces (Figs. 2A, B)

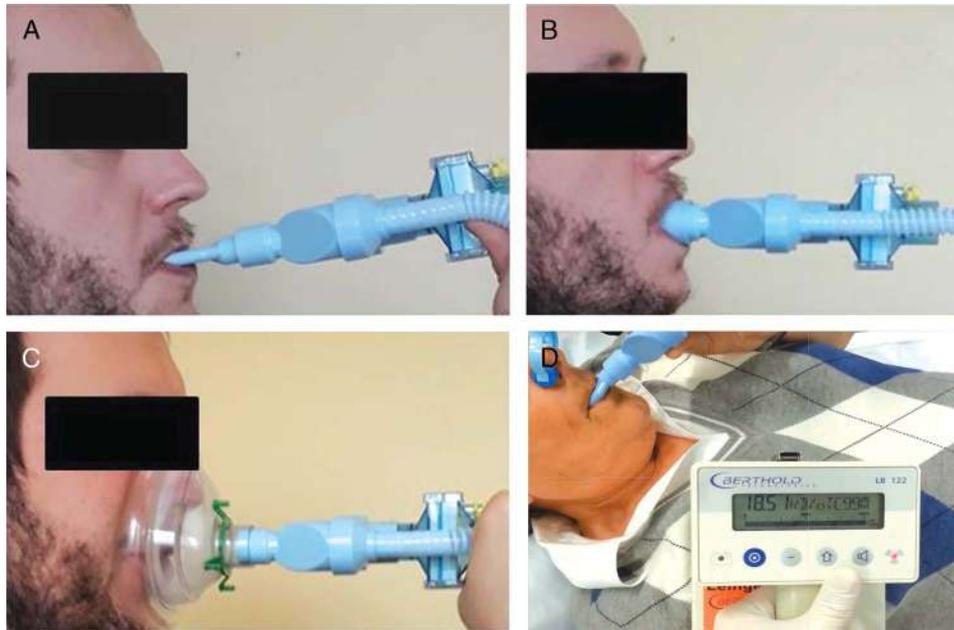


FIGURE 2. Technegas radioaerosole administration technology and technique. The radioaerosole can be administered using a mouthpiece (A and B). There are 2 kinds of mouthpieces: a flute-like (A) and a snorkel-like (B). A mask type (C) may better protect staff from patients' respiratory contamination. Compliance with the various options can be assessed during breathing practice before the radioaerosole administration. Using the nose clip with a mouthpiece approach (D) is recommended. Real-time monitoring (D) is used for either ventilation-perfusion or perfusion-ventilation methods to ensure that the second part's count rate exceeds the first by a 3:1 ratio.

tend to get better patient compliance than a mask (Fig. 2C). Using a nose clip with mouthpieces (Fig. 2D) is recommended for the best seal. Immediately after radioaerosol generation, the chamber contains no oxygen but only argon and ^{99m}Tc -CNP. The patient may become uncomfortable after initial inhalations for a brief period and could rarely cough.

By loading the crucible with 250 to 700 MBq of ^{99m}Tc pertechnetate eluate, 2 to 5 inhalation cycles are required to attain a count rate between 2000 and 5000 counts per second, which are equivalent to approximately 30 to 80 MBq (0.8–2 mCi) of a radioaerosol deposited within the lungs.^{29–32} It is crucial to stop radioaerosol delivery by turning it off when its activity approaches the higher end of the desired range, or the ^{99m}Tc -labeled macroaggregated albumin (^{99m}Tc -MAA) maximum of 6 mCi will not be enough to over-ride the ventilation activity immediately after. Hence, the deposited radioactivity is optimally monitored during the ventilation procedure. A gamma camera readily monitors the chest radioactivity when ventilation is performed on an imaging table with the detector positioned behind the patient. Those concerned with the possibility of contaminating the gamma camera detector in the prior method reported using a collimated Geiger-Müller monitor.²⁶ The variation of the second approach is using a calibrated contamination monitor (Fig. 2D).

Imaging Protocols

The traditional sequence starts with a ^{99m}Tc -CNP ventilation scan and is immediately followed by the ^{99m}Tc -MAA perfusion scan. A patient is administered both radiopharmaceuticals in the same supine position. Some sites in Europe use a mobile negative pressure dome (eg, vent-medis Inc, Salzgitter, Germany) positioned directly above the patient during ventilation to capture leaked radioaerosol. Immediately after the ventilation imaging, the patient is intravenously administered 150 to 220 MBq (4–6 mCi) of ^{99m}Tc -MAA. This

administered activity is chosen to achieve a perfusion image count rate at least 3 to 4 times the ventilation image count rate, that is, the required minimum for background count rate override. The achieved count rates of ventilation and perfusion can be assessed on the camera monitor. This way, it can be checked directly in real time whether the minimum required activity ratio has been achieved. A German multicenter study showed that in routine V/Q SPECT practice with ^{99m}Tc -CNP performed before the perfusion, approximately a quarter of examinations failed to meet the minimum required 3 times' count rate in the following perfusion imaging.³³ This highlights the importance of routinely checking the quality of the whole V/Q or Q/V study in meeting this minimum count rate override requirement.

Planar Imaging

The images are acquired with a large field-of-view single or multiheaded gamma camera. The complete planar set of projections consists of 8 views, usually starting from the anterior and posterior projections on a dual-detector gamma camera and turning the detectors 45 degrees for 4 acquisitions. The recommendation is to obtain at least 6 views: the anterior, posterior, both posterior obliques, and either both laterals or both anterior obliques. The ventilation set of images is traditionally acquired first and followed immediately by perfusion imaging. Such a protocol allows straightforward quality control to ensure that the second set in a sequence fulfills the minimum count rate override of 3 times the first set. This can be accomplished by displaying counts per minute on the anterior and posterior projections for interpreters' visual inspection. A minimum of 200 kilocounts per ventilation view is recommended, typically taking approximately 1 minute per projection. It is customary to obtain ventilation and perfusion images in all projections for the same acquisition time. However, some choose to increase the acquisition time for the first set of images (ventilation in the above example) by a factor of 3 to equalize the image quality between the sets.

V/Q SPECT/CT

The use of ^{99m}Tc -CNP facilitates the transition from planar to SPECT imaging. Protocols generally include the acquisition of projections at 120 to 128 angular positions over 360° . In one approach, each stop is acquired for 10 to 12 seconds for the ventilation and 4 to 5 seconds for the perfusion portions of the examination. Acquisition times should be selected to compensate for the perfusion and ventilation activity ratio substantially. Images should be acquired using a 128×128 matrix (pixel size, 4.8 mm) with a low-energy high-resolution collimator. Iterative reconstructions (OSEM, 4 iterations, 8 subsets) incorporating collimator response modeling and scatter compensation are recommended. SPECT acquisition can be combined with an unenhanced low-dose CT for attenuation correction and correlation of V/Q and CT findings. Attenuation correction is beneficial for quantification.³⁴ Careful attention should be paid to the risk of misregistration between CT and SPECT images in the inferior areas of the lungs, which may cause overcorrection or undercorrection and could cause false-positive defects. To reduce SPECT and CT misregistration, shallow breathing or holding the breath at incomplete expiration or midinspiration during the CT acquisition is recommended.

A survey of practices in Australia, Canada, and France conducted in 2014 showed that tomographic techniques largely replaced planar V/Q imaging.³⁵ Improved sensitivity of tomographic over planar V/Q imaging raised concern for PE overdiagnosis.³⁶ The definition of PE overdiagnosis is a correct (true positive) diagnosis in an asymptomatic person that does not produce a net benefit (or results in net harm from complications of unnecessary treatment, ie, overtreatment) for that person.³⁷ In the context of V/Q techniques, overdiagnosis means detection of a true-positive finding, typically of a subsegmental defect, on a tomographic technique that does not produce a net benefit or causes net harm from adverse effects of anticoagulation (overtreatment) that would have passed undetected and untreated on the planar scan. This concern held back the transition from planar to tomographic V/Q imaging in the United States. However, a recent prospective study showed that withholding anticoagulation from patients with even a single subsegmental defect increased the rate of subsequent PE.³⁸ This argues in favor of converting to the more sensitive tomographic scintigraphy.

V/Q PET/CT With ^{68}Ga -Labeled Radiopharmaceuticals

PET/CT is a superior technology to either SPECT/CT or planar image acquisition, offering higher sensitivity and resolution and better integration with respiratory gating technology.³⁹ Therefore, it is an exciting opportunity to consider V/Q PET/CT. Lung ventilation imaging is obtained after inhaling ^{68}Ga -labeled CNPs, termed “Galligas.” Galligas is prepared using the original Technegas generator and substituting ^{68}Ga for ^{99m}Tc in the carbon crucible of the synthesis unit.³⁹ Blanc-Beguín et al¹⁹ demonstrated that the previously described methodology used in a routine clinical manner produces ^{99m}Tc -labeled and ^{68}Ga -labeled CNPs of similar shape and size. Perfusion imaging is then obtained after injection of ^{68}Ga -MAA. The first pilot studies of the V/Q PET/CT for diagnosing PE were promising and warrant further investigations.^{40,41} Other emerging applications for V/Q PET/CT are lung cancer radiotherapy planning and preoperative regional lung function assessment.^{42,43}

Interpretation Criteria

The hallmark of PE on V/Q imaging is the mismatched perfusion defect, that is, an area with decreased to absent perfusion but preserved ventilation. Figure 3 shows an example of acute PE on V/Q SPECT/CT. Importantly, the interpretation criteria for planar versus SPECT or SPECT/CT V/Q approaches are significantly different. This review details the latter and defers a comprehensive discussion of planar V/Q criteria to a recent review by Metter et al.⁴⁴

In short, interpretational systems for planar V/Q imaging are either probabilistic or definitive. The PLOPED probabilistic criteria have the advantage of being validated in extensive multicenter studies.^{45–47} An interpreter discerns a probability of PE based on the observed patterns and associated radiographic characteristics, which is complex enough to cause high interobserver disagreement. Furthermore, probabilistic terminology to report the results is often confusing. It was demonstrated that the misunderstanding of probabilistic categories by the ordering physicians frequently leads to inappropriate management.⁴⁸ On the other hand, the definitive approach, for example, the Prospective Investigative Study of Acute Pulmonary Embolism Diagnosis (PISA-PED) system, is

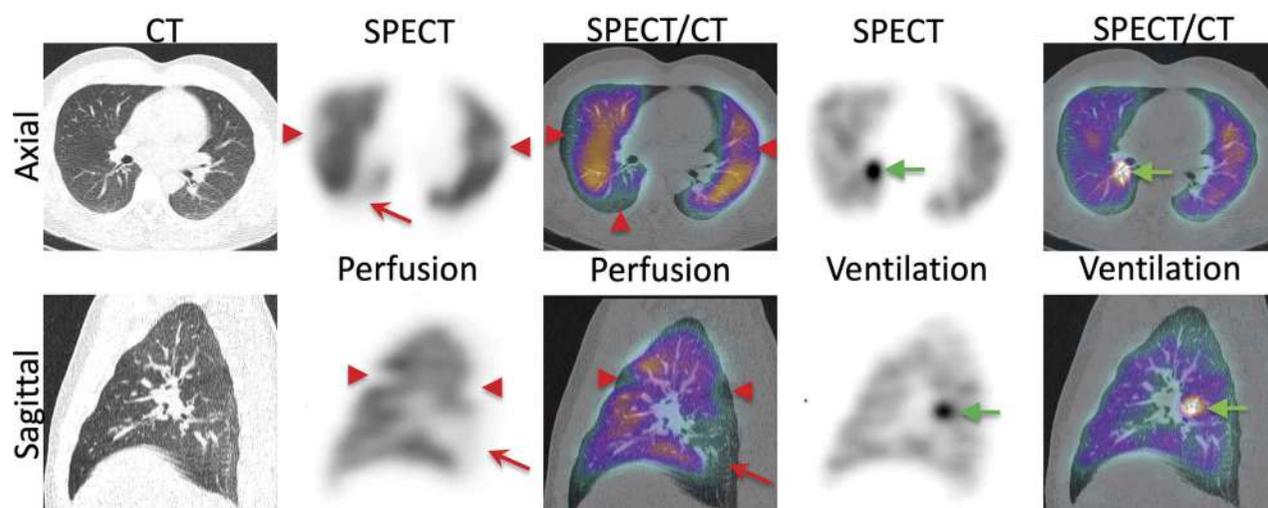


FIGURE 3. Example of PE on V/Q SPECT/CT imaging performed in the traditional ventilation first sequence. Perfusion SPECT images show a large segmental, wedge-shaped perfusion defect in the right posterior basal segment (red arrows). Also shown are subsegmental defects bilaterally (red arrowheads). All perfusion defects are mismatched on ventilation imaging. There is a “hot spot” on the ventilation images because of the impaction of Technegas particles (also known as “clumping”) in the proximal airway in this patient with an element of obstructive airways disease.

straightforward, and report terminology is transparent.^{49,50} It combines a planar perfusion scan with a chest x-ray (CXR) comparison paradigm (Q + CXR). The results are expressed in a definitive framework: (1) PE present, (2) PE absent, and (3) not diagnostic. Americans called this definitive reporting a “trinary system.”⁵¹ Europeans called the same system “binary with respect to PE.”¹³ The PIOPED investigators adopted their criteria to the Q + CXR paradigm and retrospectively compared it with the PISA-PED’s original criteria.⁵² They found the Q + CXR PIOPED II modified approach superior to the original PIOPED II and avoid doing entilation. But these results did not noticeably reduce the utilization of ventilation imaging in the United States. This suggests that diagnostic accuracy for the PE indication is not the only factor determining the ventilation scintigraphy’s continued usage, and interrogating patients’ ventilatory patterns is even a more compelling reason.

In addition, a later study using SPECT/CT technology and performed prospectively showed that omitting the ventilation component significantly reduced the specificity for PE.⁵³ The authors considered the ventilation portion of the SPECT/CT methodology “mandatory” for evaluating PE to maintain high specificity.⁵⁴ More recent studies confirmed that reliance on the low-dose CT and skipping the ventilation SPECT would significantly increase the rate of false-positive results.⁵⁵⁻⁵⁷ Whereas V/Q SPECT/CT has similar sensitivity to V/Q SPECT, the addition of CT often reveals the underlying nonvascular causes for the matched defects.^{55,57}

The advantages of tomographic V/Q imaging over planar are its ability to eliminate activities overlap, improve visualization of the medial-basal segment, and better characterize defects’ size, shape, and location.⁵⁸ Expectedly, V/Q SPECT is more sensitive for identifying small, subtle, and deep perfusion defects than planar imaging.⁵⁹ SPECT Q and V/Q improve lung scintigraphy’s diagnostic accuracy and significantly decrease the proportion of nondiagnostic (also known as indeterminate) studies to less than 5% of cases.⁵⁹⁻⁶¹ Although prospective clinical outcome studies on tomographic V/Q imaging are still lacking,⁶² the technique has been widely implemented in the routine practice of countries where ^{81m}Kr gas or ^{99m}Tc-CNP is available.³⁵ Interpretive positivity threshold of 1 segmental or 2 subsegmental mismatched defects (European Association of Nuclear Medicine criteria) is accepted worldwide.^{63,64} A defect is usually considered segmental if it involves greater than 75% of

the size of the segment.⁶⁴ However, the definitive criteria for “PE present” based on a single “segmental” defect are based on a defect that is greater than 50% of a corresponding anatomical segment’s size.⁶⁵ However, ambiguity remains about the size of a small “subsegmental” defect that should not be considered in the diagnostic criteria for a positive examination. The V/Q SPECT threshold for a positive test (ie, 1 segment or 2 subsegments) is lower than the planar study (ie, 2 segments segmental equivalents). Accurately recognizing false-positive defects in V/Q SPECT is paramount. The addition of a low-dose CT improves the SPECT quality through attenuation correction. It reduces the probability of false-positive findings caused by readily identifiable on CT pleural effusions, emphysema, or pneumonia. The “fissure sign” is also better identified by correlating with CT.⁶⁶ A “fissure sign” usually causes a more pronounced perfusion defect than ventilation abnormality, characteristically extending along all or part of anatomical pulmonary fissures (Fig. 4).

COVID-19 PANDEMIC TRIGGERS DEBATE ABOUT THE NEED FOR VENTILATION SCANS

The recommendations of North American nuclear medicine organizations cautioned about the risks of ventilation imaging with some variation. The American College of Nuclear Medicine guidance stated: “Avoid use of ventilation scintigraphy, especially based on aerosolized liquids, since they may hasten transmission of SARS-CoV-2.”⁶⁷ Guidance of the Society of Nuclear Medicine and Molecular Imaging has evolved in response to the pandemic-related circumstantial changes.⁶⁸ The first iteration recommended skipping ventilation altogether and performing the perfusion-only study. The second Society of Nuclear Medicine and Molecular Imaging iteration suggested a slight easing of the restrictive approach. The final recommendation was most liberal by stating that “ventilation scans can be increasingly incorporated as a routine part of the workup of suspected pulmonary embolism.”⁶⁹

The British Society of Nuclear Medicine offered a multifactorial algorithm that favored V/Q SPECT in most instances while limiting to perfusion-only scans or CT pulmonary angiography in COVID-19-positive patients.⁷⁰ Still, some British Society of Nuclear Medicine members expressed strong opposition to ventilation scans in favor of Q SPECT/CT,⁷¹ which echoes the view of some American

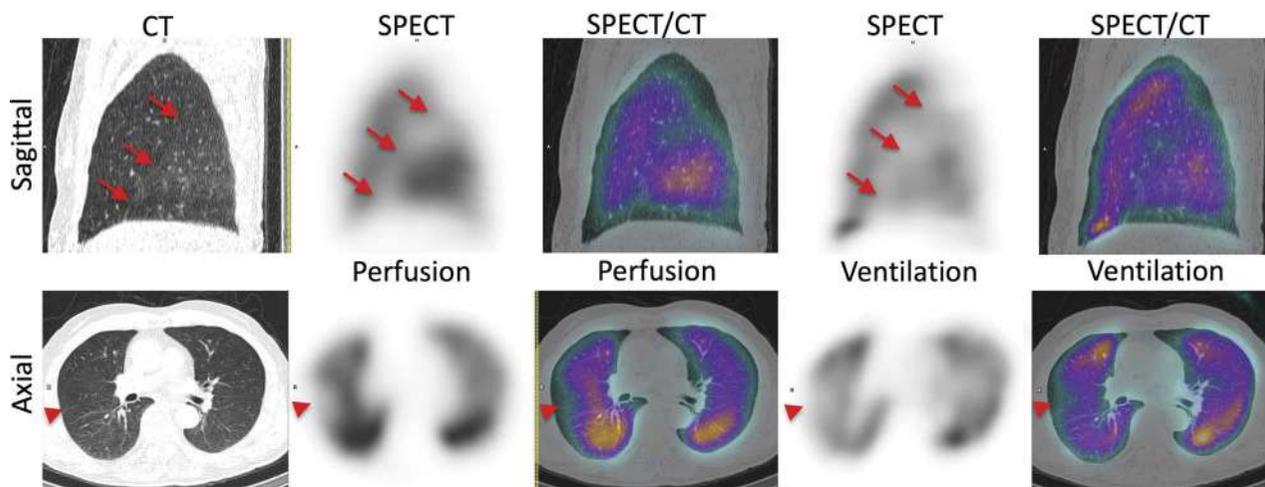


FIGURE 4. The “fissure sign” on a normal V/Q SPECT/CT study performed in the traditional sequence. The oblique fissure on the sagittal CT reconstruction is annotated with red arrows. The SPECT images show a corresponding decrease in activity that appears more conspicuous on perfusion than on ventilation images. The same finding displays a wedge-shaped appearance on the axial perfusion slice (red arrowheads) that could lead an unaware reader to a false-positive interpretation.

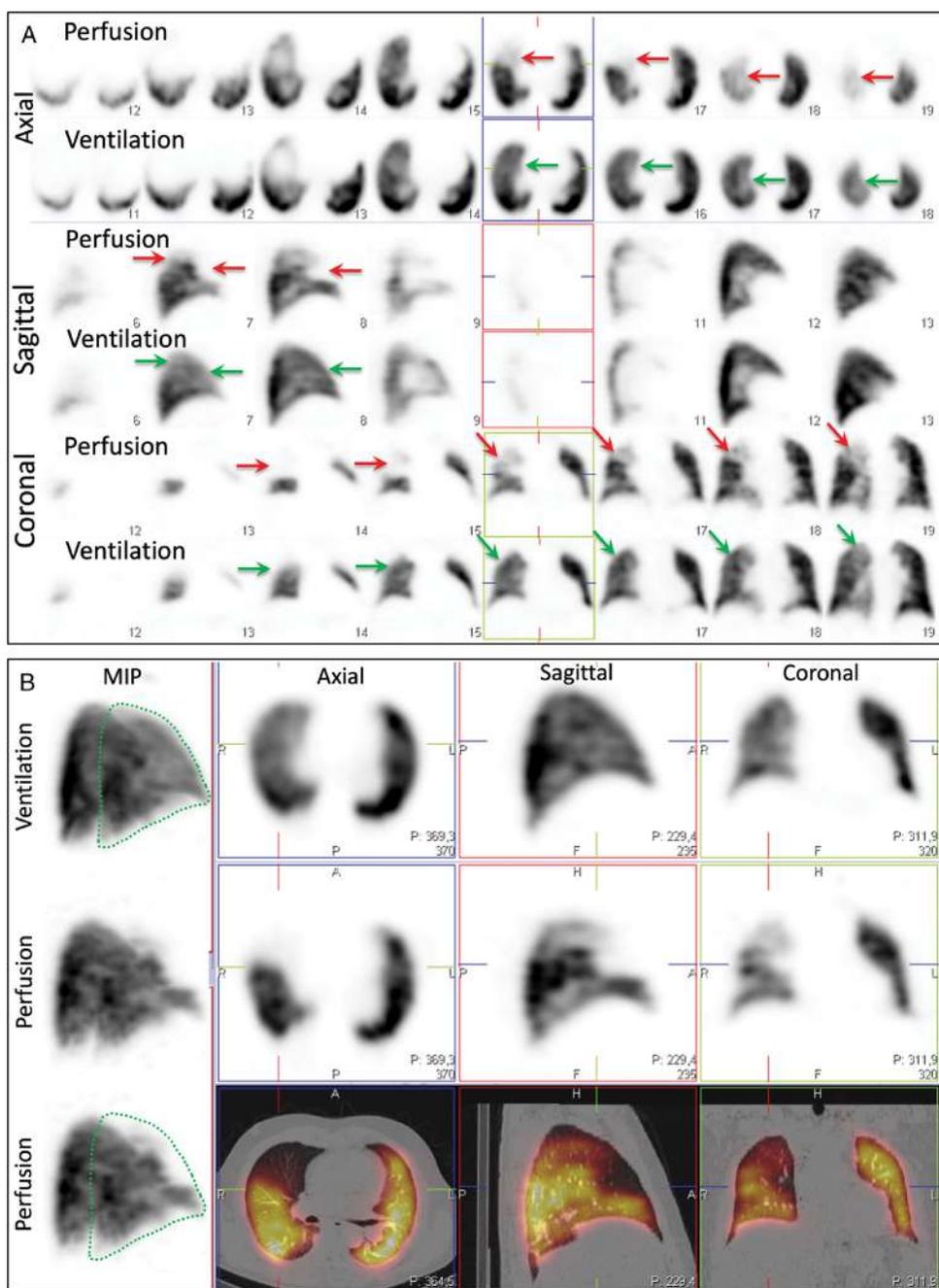


FIGURE 5. A, Example of a positive SPECT/CT scan for PE performed during the COVID-19 era using the reverse-order sequence (Q/V SPECT/CT). The perfusion SPECT/CT was obtained first and revealed a segmental defect in the right upper and middle lobes that had no correlating CT findings. The ventilation imaging was then obtained using higher-activity Technegas settings and administered under real-time monitoring to ensure more than 3:1 count rate override. **A,** Slice-by-slice comparison of ventilation and perfusion SPECT shows mismatched right upper and the middle lobe defects. Notice how the perfusion images are noisier than ventilation in this reverse-order imaging sequence because of the deposited activity differences. **B,** The same patient's images are shown in traditional ventilation first and perfusion second sequence of representative SPECT and perfusion SPECT/CT fusion slices. The addition of CT provided better anatomical delineation and confirmed the diagnosis of PE by demonstrating the absence of underlying structural CT abnormalities. The MIPs of SPECT data in the right posterior oblique view show the void of perfusion in the region with normal ventilation. The bottom left perfusion MIP includes the outline of the ventilation MIP (the green dotted line). **B,** The same patient's images are displayed in the traditional ventilation-perfusion sequence showing representative SPECT and perfusion SPECT/CT fusion slices. The addition of CT provided better anatomical delineation and confirmed the diagnosis of PE by demonstrating the absence of underlying structural CT abnormalities. The MIPs of SPECT data in the right posterior oblique view show the void of perfusion in the region with normal ventilation. The bottom left perfusion MIP includes the outline of the ventilation MIP (the green dotted line).

colleagues.⁷² Others rebuke this view by arguing that maintaining routine use of ventilation scans increases the test's specificity and recommending a caveat inclusion that perfusion-only techniques have a higher probability of false-positive results in corresponding test reports.⁸ A middle-ground approach was also proposed where perfusion imaging would be performed first as a “screening test” and adding ventilation testing or CT pulmonary angiography for only the cases with abnormal findings, moderated by integration of clinical probability.^{73–75} The German Society of Nuclear Medicine offered a similar approach whereby the perfusion is performed first and ventilation imaging afterward only in cases with significant perfusion abnormalities.⁹

In the latter methodology, the perfusion study is performed after injecting 35 to 45 MBq of ^{99m}Tc-MAA, followed by a low-dose CT scan (Fig. 5). The ventilation imaging should be performed only if more than 1 subsegmental or at least 1 segmental perfusion defect is present without apparent CT abnormalities (Fig. 5). The activity of ^{99m}Tc pertechnetate added to the Technegas generator is increased to approximately 3 to 4 times the usual. The patient is ventilated under a gamma camera for the real-time count rate reaching 3 to 4 times that of the perfusion count rate. This approach maintains the best possible specificity and sensitivity but minimizes the overall viral transmission risks from ventilation imaging. Another benefit of this approach is that the low-dose CT scan can analyze the lung parenchyma for COVID-type changes, contributing to an overall diagnostic evaluation in patients suspected of COVID-19 infection. Figure 5 shows an example of this technique. Perfusion images performed with the lower administered activity of ^{99m}Tc-MAA (Fig. 5A, upper rows) revealed 2 segmental perfusion defects, and the low-dose CT was normal. This led to the performance of ^{99m}Tc-CNP ventilation with a higher administered activity (Fig. 5A, lower rows). Therefore, the perfusion SPECT images are slightly noisier than the ventilation. The Q/V SPECT/CT study showed 2 segmental mismatches, that is, positive for PE. The MIP displays for ventilation and perfusion SPECT data and SPECT/CT fusion may be especially helpful for readers who recently transitioned from planar to SPECT or SPECT/CT V/Q imaging (Fig. 5B).

The French Society of Nuclear Medicine recommends maintaining the routine performance of ventilation studies, arguing that the risk of viral contamination can be mitigated by appropriate personal protective equipment.¹⁰ Furthermore, only the combination of V/Q imaging has a proven record of patient management in prospective clinical trials.^{45–47} Another argument is based on a large retrospective study of 393 patients that showed 15% false-positive Q SPECT/CT studies when V/Q SPECT/CT was interpreted as definitively negative.⁵⁵ In a smaller series of 81 patients, specificity for PE decreased from 100% with V/Q SPECT/CT to 51% on a Q SPECT/CT.⁵³ Another confirmation was observed in a set of 93 patients suspected of PE—12 of 69 (17%) negative V/Q SPECT scans were falsely classified as positive on Q SPECT/CT (V SPECT withheld from interpretation).⁵⁶ It is not surprising that a recent multicenter study of positive patients for COVID-19 found even a more significant reduction of the specificity when V SPECT was withheld from the interpretation of V/Q SPECT/CT examinations.¹⁰ Of 145 patients with COVID-19, PE was excluded in 57% of the cases without V SPECT, but a V SPECT was necessary to confidently characterize abnormal perfusion findings as not due to PE in 31% of the patients.

Therefore, such a high risk of false-positive results because of omitting a ventilation scanning in Q SPECT/CT or Q SPECT techniques could lead to unacceptably frequent unnecessary anticoagulation that places those patients at risk of severe associated adverse effects.⁷⁶ Finally, even if the perfusion-only scan (planar or SPECT) with either a CXR or a CT is normal in a patient with complaints of shortness of breath, such a patient would be left without an explanation

of the etiology. A reverse (also known as reversed) mismatch (normal perfusion associated with an area of poor to absent ventilation) is expected to provide the answer and lead to appropriate therapy. The etiologies for reverse mismatch include mucous plugging, obstructive airway diseases, pneumonia, effusions, and, least commonly, a tumor obstruction or occluding a proximal bronchus. Because many such patients receive vasoactive medications, the hypoxia-mediated vasoconstriction is blunted to blocked entirely. The reverse mismatch can result in severe hypoxia and shortness of breath when a large lung section is perfused with venous blood that is not oxygenated (functional intrapulmonary shunting).^{77–81} These findings are observed in more than 1 of every 10 patients undergoing V/Q imaging.⁸⁰ In such cases, ventilation imaging is the key to identifying treatable etiology for the presenting complaints of shortness of breath and hypoxia leading to suspicion of PE, which is the most clinically persuasive argument for retaining the ventilation part of the study.^{53,82}

CONCLUSIONS

The ^{99m}Tc-CNP is an excellent imaging option for assessing pulmonary airways and offers unique advantages during the COVID-19 pandemic. It also provides the flexibility of either the traditional sequence of V/Q imaging or the reverse sequence of Q/V imaging that can reduce the overall utilization of ventilation studies, hence lessening the staff exposure time and the risk of getting infected.⁸³ The nuclear medicine community will continue with intense but exciting clinical research that should bring us closer to the best imaging protocol that should depend on individual patient circumstances, considering all of the options that include planar, SPECT, SPECT/CT, or the recently developed PET/CT imaging.

REFERENCES

1. Tulchinsky M, Fotos JS, Wechalekar K, et al. Applications of ventilation-perfusion scintigraphy in surgical management of chronic obstructive lung disease and cancer. *Semin Nucl Med.* 2017;47:671–679.
2. Burch WM, Tetley IJ, Gras JL. Technetium-99 m ‘pseudogas’ for diagnostic studies in the lung. *Clin Phys Physiol Meas.* 1984;5:79–85.
3. Isawa T, Teshima T, Anazawa Y, et al. Inhalation of pertechnetate: similar clearance from the lungs to that of inhaled pertechnetate aerosol. *Nucl Med Commun.* 1995;16:741–746.
4. Kennedy-Dixon TG, Gossell-Williams M, Cooper M, et al. Evaluation of radiopharmaceutical adverse reaction reports to the British Nuclear Medicine Society from 2007 to 2016. *J Nucl Med.* 2017;58:2010–2012.
5. Rojas-Burke J. High hopes for Technegas. *J Nucl Med.* 1991;32:24N–25N 29N-30N.
6. Tulchinsky M. The U.S. nuclear medicine physicians & technologists are petitioning the FDA: “approve Technegas® now!”. 2021. Available at: <https://www.linkedin.com/pulse/us-nuclear-medicine-physicians-technologists-fda-now-mark-tulchinsky/>. Accessed May 25, 2022.
7. Gross LJ, Tulchinsky M. Petition to the FDA for the expedient approval for Technegas™. 2020. Available at: <https://www.linkedin.com/pulse/petition-fda-expedient-approval-technegas-lucas-gross/?trackingId=bgX5lagqTq6ZUvVxCrKmgg%3D%3D>. Accessed May 25, 2022.
8. Le Roux PY, Le Gal G, Salaun PY. Lung scintigraphy for pulmonary embolism diagnosis during the COVID-19 pandemic: does the benefit-risk ratio really justify omitting the ventilation study? *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* 2020;47:2499–2500.
9. Krause BJ, Bartenstein P, Freudenberg LS, et al. Coronavirus SARS-CoV-2: Empfehlungen für die nuklearmedizinische Versorgung in nuklearmedizinischen Kliniken/Abteilungen mit Therapiestation und Praxen, Instituten sowie Ordinationen. *Nuklearmedizin.* 2020;59:e1–e4.
10. Le Roux PY, Bonnefoy PB, Bahloul A, et al. Lung scintigraphy for pulmonary embolism diagnosis in COVID-19 patients: a multicenter study. *J Nucl Med.* 2022;63:1070–1074.
11. Americans will always do the right thing—after exhausting all the alternatives. *Quote Investigator.* 2012. Available at: <https://quoteinvestigator.com/2012/11/11/exhaust-alternatives/>. Accessed May 31, 2022.

12. Opanowski A, Gross LJ, Tulchinsky M. Radiopharmaceutical options for the ventilation part of ventilation-perfusion scintigraphy performed for the indication of pulmonary embolism: US practice survey. *Clin Nucl Med*. 2015;40:553–558.
13. Bajc M, Schumichen C, Gruning T, et al. EANM guideline for ventilation/perfusion single-photon emission computed tomography (SPECT) for diagnosis of pulmonary embolism and beyond. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2019;46:2429–2451.
14. Carvalho TC, Peters JI, Williams RO 3rd. Influence of particle size on regional lung deposition—what evidence is there? *Int J Pharm*. 2011;406:1–10.
15. Sanchez-Crespo A. Lung scintigraphy in the assessment of aerosol deposition and clearance. *Semin Nucl Med*. 2019;49:47–57.
16. Burch WM. Evidence for the long-term biological distribution of Technegas particles. *Nucl Med Commun*. 1993;14:559–561.
17. Lemb M, Oei TH, Eifert H, et al. Technegas: a study of particle structure, size and distribution. *Eur J Nucl Med*. 1993;20:576–579.
18. Senden TJ, Moock KH, Gerald JF, et al. The physical and chemical nature of Technegas. *J Nucl Med*. 1997;38:1327–1333.
19. Blanc-Beguín F, Elies P, Robin P, et al. (68)Ga-labelled carbon nanoparticles for ventilation PET/CT imaging: physical properties study and comparison with Technegas(R). *Mol Imaging Biol*. 2021;23:62–69.
20. Lloyd JJ, Shields RA, Taylor CJ, et al. Technegas and pertechnegas particle size distribution. *Eur J Nucl Med*. 1995;22:473–476.
21. Moller H, Felten K, Seitz J, et al. A generator for the production of radiolabelled ultrafine carbonaceous particles for deposition and clearance studies in the respiratory tract. *Aerosol Sci*. 2006;37:631–644.
22. Cook G, Clarke SE. An evaluation of Technegas as a ventilation agent compared with krypton-81 m in the scintigraphic diagnosis of pulmonary embolism. *Eur J Nucl Med*. 1992;19:770–774.
23. Peltier P, de Faucal P, Chetanneau A, et al. Comparison of technetium-99 m aerosol and krypton-81 m in ventilation studies for the diagnosis of pulmonary embolism. *Nucl Med Commun*. 1990;11:631–638.
24. James JM, Lloyd JJ, Leahy BC, et al. 99Tcm-Technegas and krypton-81 m ventilation scintigraphy: a comparison in known respiratory disease. *Br J Radiol*. 1992;65:1075–1082.
25. Hartmann IJ, Hagen PJ, Stokkel MP, et al. Technegas versus (81m)Kr ventilation-perfusion scintigraphy: a comparative study in patients with suspected acute pulmonary embolism. *J Nucl Med*. 2001;42:393–400.
26. Jogi J, Jonson B, Ekberg M, et al. Ventilation-perfusion SPECT with ^{99m}Tc-DTPA versus Technegas: a head-to-head study in obstructive and nonobstructive disease. *J Nucl Med*. 2010;51:735–741.
27. Currie GM, Bailey DL. A technical overview of Technegas as a lung ventilation agent. *J Nucl Med Technol*. 2021;49:313–319.
28. Pourchez J, Cottier M, Clotagatide A, et al. Generation and characterization of radiolabelled nanosized carbonaceous aerosols for human inhalation studies. *J Aerosol Sci*. 2013;55:1–11.
29. Burch WM, Sullivan PJ, Lomas FE, et al. Lung ventilation studies with technetium-99m pseudogas. *J Nucl Med*. 1986;27:842–846.
30. Isawa T, Teshima T, Anazawa Y, et al. Technegas for inhalation lung imaging. *Nucl Med Commun*. 1991;12:47–55.
31. Mackey DW, Jackson P, Baker RJ, et al. Physical properties and use of pertechnegas as a ventilation agent. *J Nucl Med*. 1997;38:163–167.
32. Monaghan P, Provan I, Murray C, et al. An improved radionuclide technique for the detection of altered pulmonary permeability. *J Nucl Med*. 1991;32:1945–1949.
33. Schaefer WM, Meyer A, Knollmann D. Lung ventilation/perfusion SPECT for diagnosing pulmonary embolism. Is the required minimal P/V count rate ratio fulfilled in routine situation? Results from a multicentre survey. *Nuklearmedizin*. 2015;54:217–222.
34. Bourhis D, Robin P, Essayan M, et al. V/Q SPECT for the assessment of regional lung function: generation of normal mean and standard deviation 3-D maps. *Front Med (Lausanne)*. 2020;7:143.
35. Le Roux PY, Pelletier-Galarneau M, de Laroche R, et al. Pulmonary scintigraphy for the diagnosis of acute pulmonary embolism: a survey of current practices in Australia, Canada, and France. *J Nucl Med*. 2015;56:1212–1217.
36. Freeman LM, Glaser JE, Haramati LB. Planar ventilation-perfusion imaging for pulmonary embolism: the case for “outcomes” medicine. *Semin Nucl Med*. 2012;42:3–10.
37. Dobler CC. Overdiagnosis of pulmonary embolism: definition, causes and implications. *Breathe (Sheff)*. 2019;15:46–53.
38. Le Gal G, Kovacs MJ, Bertoletti L, et al. Risk for recurrent venous thromboembolism in patients with subsegmental pulmonary embolism managed without anticoagulation: a multicenter prospective cohort study. *Ann Intern Med*. 2022;175:29–35.
39. Le Roux PY, Hicks RJ, Siva S, et al. PET/CT lung ventilation and perfusion scanning using Galligas and gallium-68-MAA. *Semin Nucl Med*. 2019;49:71–81.
40. Hofman MS, Beauregard JM, Barber TW, et al. ⁶⁸Ga PET/CT ventilation-perfusion imaging for pulmonary embolism: a pilot study with comparison to conventional scintigraphy. *J Nucl Med*. 2011;52:1513–1519.
41. Le Roux P-Y, Iravani A, Callahan J, et al. Independent and incremental value of ventilation/perfusion PET/CT and CT pulmonary angiography for pulmonary embolism diagnosis: results of the PECAN pilot study. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2019;46:1596–1604.
42. Le Roux PY, Siva S, Steinfors DP, et al. Correlation of ⁶⁸Ga ventilation-perfusion PET/CT with pulmonary function test indices for assessing lung function. *J Nucl Med*. 2015;56:1718–1723.
43. Siva S, Thomas R, Callahan J, et al. High-resolution pulmonary ventilation and perfusion PET/CT allows for functionally adapted intensity modulated radiotherapy in lung cancer. *Radiother Oncol*. 2015;115:157–162.
44. Metter D, Tulchinsky M, Freeman LM. Current status of ventilation-perfusion scintigraphy for suspected pulmonary embolism. *AJR Am J Roentgenol*. 2017;208:489–494.
45. Perrier A, Desmarais S, Miron MJ, et al. Non-invasive diagnosis of venous thromboembolism in outpatients. *Lancet*. 1999;353:190–195.
46. Anderson DR, Kahn SR, Rodger MA, et al. Computed tomographic pulmonary angiography vs ventilation-perfusion lung scanning in patients with suspected pulmonary embolism: a randomized controlled trial. *JAMA*. 2007;298:2743–2753.
47. Wells PS, Ginsberg JS, Anderson DR, et al. Use of a clinical model for safe management of patients with suspected pulmonary embolism. *Ann Intern Med*. 1998;129:997–1005.
48. Gray HW, McKillop JH, Bessent RG. Lung scan reports: interpretation by clinicians. *Nucl Med Commun*. 1993;14:989–994.
49. Bomanji JB. Confession and some lessons. The PISA-PED study. *Chest*. 1995;108:1475–1477.
50. Miniati M, Pistolesi M, Marini C, et al. Value of perfusion lung scan in the diagnosis of pulmonary embolism: results of the Prospective Investigative Study of Acute Pulmonary Embolism Diagnosis (PISA-PED). *Am J Respir Crit Care Med*. 1996;154:1387–1393.
51. Glaser JE, Chamarthy M, Haramati LB, et al. Successful and safe implementation of a trinary interpretation and reporting strategy for V/Q lung scintigraphy. *J Nucl Med*. 2011;52:1508–1512.
52. Sostman HD, Miniati M, Gottschalk A, et al. Sensitivity and specificity of perfusion scintigraphy combined with chest radiography for acute pulmonary embolism in PIOPED II. *J Nucl Med*. 2008;49:1741–1748.
53. Gutte H, Mortensen J, Jensen CV, et al. Detection of pulmonary embolism with combined ventilation-perfusion SPECT and low-dose CT: head-to-head comparison with multidetector CT angiography. *J Nucl Med*. 2009;50:1987–1992.
54. Gutte H, Mortensen J, Kjaer A. Detection of pulmonary embolism: comparison of methods. *J Nucl Med*. 2010;51:824–828.
55. Le Roux PY, Robin P, Delluc A, et al. Additional value of combining low-dose computed tomography to V/Q SPECT on a hybrid SPECT-CT camera for pulmonary embolism diagnosis. *Nucl Med Commun*. 2015;36:922–930.
56. Palmowski K, Oltmanns U, Kreuter M, et al. Diagnosis of pulmonary embolism: conventional ventilation/perfusion SPECT is superior to the combination of perfusion SPECT and nonenhanced CT. *Respiration*. 2014;88:291–297.
57. Thanuja M, Maimanah M, Sara U. Diagnosis of pulmonary embolism: a comparison between ventilation/perfusion SPECT/CT and perfusion-only SPECT/CT. *Med J Malaysia*. 2020;75:490–493.
58. Le Roux PY, Robin P, Salaun PY. New developments and future challenges of nuclear medicine and molecular imaging for pulmonary embolism. *Thromb Res*. 2018;163:236–241.
59. Mazurek A, Dziuk M, Witkowska-Patena E, et al. The utility of hybrid SPECT/CT lung perfusion scintigraphy in pulmonary embolism diagnosis. *Respiration*. 2015;90:393–401.
60. Miles S, Rogers KM, Thomas P, et al. A comparison of single-photon emission CT lung scintigraphy and CT pulmonary angiography for the diagnosis of pulmonary embolism. *Chest*. 2009;136:1546–1553.
61. Le Duc-Pennec A, Le Roux PY, Cornily JC, et al. Diagnostic accuracy of single-photon emission tomography ventilation/perfusion lung scan in the diagnosis of pulmonary embolism. *Chest*. 2012;141:381–387.

62. Le Roux PY, Robin P, Tromeur C, et al. Ventilation/perfusion SPECT for the diagnosis of pulmonary embolism: a systematic review. *J Thromb Haemost*. 2020;18:2910–2920.
63. Bajc M, Neilly JB, Miniati M, et al. EANM guidelines for ventilation/perfusion scintigraphy: part 2. Algorithms and clinical considerations for diagnosis of pulmonary emboli with V/P(SPECT) and MDCT. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2009;36:1528–1538.
64. Le Roux PY, Robin P, Delluc A, et al. V/Q SPECT interpretation for pulmonary embolism diagnosis: which criteria to use? *J Nucl Med*. 2013;54:1077–1081.
65. Howarth DM, Booker JA, Voutnis DD. Diagnosis of pulmonary embolus using ventilation/perfusion lung scintigraphy: more than 0.5 segment of ventilation/perfusion mismatch is sufficient. *Intern Med J*. 2006;36:281–288.
66. Schembri GP, Roach PJ, Bailey DL, et al. Artifacts and anatomical variants affecting ventilation and perfusion lung imaging. *Semin Nucl Med*. 2015;45:373–391.
67. Tulchinsky M, Osmany S. The American College of Nuclear Medicine guidance on operating procedures for a nuclear medicine facility during COVID-19 pandemic. *Clin Nucl Med*. 2021;46:571–574.
68. Society of Nuclear Medicine and Molecular Imaging. SNMMI statement: COVID-19 and ventilation/perfusion (V/Q) lung studies. Available at: <https://www.snmmi.org/NewsPublications/NewsDetail.aspx?ItemNumber=36714>. Accessed May 25, 2022.
69. SNMMI statement: COVID-19 and ventilation/perfusion (V/Q) lung studies. *J Nucl Med Technol*. 2021;49:12A.
70. Buscombe JR, Notghi A, Croasdale J, et al. COVID-19: guidance for infection prevention and control in nuclear medicine. *Nucl Med Commun*. 2020;41:499–504.
71. Voo S, Dizdarevic S. Single photon emission computed tomography lung perfusion imaging during the COVID-19 pandemic: does nuclear medicine need to reconsider its guidelines? *Nucl Med Commun*. 2020;41:991–993.
72. Lu Y, Macapinlac HA. Perfusion SPECT/CT to diagnose pulmonary embolism during COVID-19 pandemic. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2020;47:2064–2065.
73. Zuckier LS, Moadel RM, Haramati LB, et al. Diagnostic evaluation of pulmonary embolism during the COVID-19 pandemic. *J Nucl Med*. 2020;61:630–631.
74. Boone SL, Zuckier LS. Ventilation-perfusion scans after the COVID-19 pandemic: point-ventilation studies are dispensable. *AJR Am J Roentgenol*. 2022;218:29–30.
75. Zuckier LS. To everything there is a season: taxonomy of approaches to the performance of lung scintigraphy in the era of COVID-19. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2021;48:666–669.
76. Konstantinides SV, Meyer G, Becattini C, et al. ESC guidelines for the diagnosis and management of acute pulmonary embolism developed in collaboration with the European Respiratory Society (ERS): the Task Force for the Diagnosis and Management of Acute Pulmonary Embolism of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Respir J*. 2019;54:1901647.
77. Palmaz JC, Barnett CA, Reich SB, et al. Reverse ventilation-perfusion mismatch. *Clin Nucl Med*. 1984;9:6–9.
78. Zucker I, Heyman S, Ozdemir S. Reversed ventilation-perfusion mismatch involving a pediatric patient in congestive heart failure. *J Nucl Med*. 1997;38:1681–1683.
79. Wartski M, Zerbib E, Regnard JF, et al. Reverse ventilation-perfusion mismatch in lung cancer suggests intrapulmonary functional shunting. *J Nucl Med*. 1998;39:1986–1989.
80. Carvalho P, Lavender JP. The incidence and etiology of the ventilation/perfusion reverse mismatch defect. *Clin Nucl Med*. 1989;14:571–576.
81. Shih WJ, Bogner B. Reverse mismatched ventilation-perfusion pulmonary imaging with accumulation of technetium-99 m-DTPA in a mucous plug in a main bronchus: a case report. *J Nucl Med Technol*. 1999;27:303–305.
82. Lavelly WC, Patel VK. Ventilation-perfusion scans after the COVID-19 pandemic: counterpoint-ventilation studies are here to stay. *AJR Am J Roentgenol*. 2021;218:31–32.
83. Suh M. In the COVID-19 era, is it OK to perform a perfusion-only SPECT/CT for the diagnosis of pulmonary embolism? *Nucl Med Mol Imaging*. 2022;56:67–70.

Titre : Développement de médicaments radiopharmaceutiques pour l'évaluation fonctionnelle pulmonaire en tomographie par émission de positons

Mots clés : TEP, MAA, nanoparticules de carbone, ^{68}Ga

Résumé : La tomographie par émission monophotonique (TEMP) pulmonaire est un examen de référence pour le diagnostic de l'embolie pulmonaire. Comparativement à la SPECT, la tomographie par émission de positons (TEP) présente des avantages techniques. Il est maintenant possible de réaliser des TEP pulmonaires en conservant les mêmes vecteurs que pour la TEMP (i.e. macroagrégat d'albumine (MAA) pour l'imagerie de perfusion et nanoparticules de carbone pour l'imagerie de ventilation) mais en substituant le technetium-99m ($^{99\text{m}}\text{Tc}$) par le gallium-68 (^{68}Ga). Le but de ce travail a été de développer les médicaments radiopharmaceutiques de la TEP pulmonaire afin de faciliter l'implémentation de cet examen dans les services de médecine nucléaire.

Les données de la littérature ont permis de mettre au point un procédé de synthèse entièrement automatisé respectant les Bonnes Pratiques de Préparation (BPP) pour l'obtention de [^{68}Ga]Ga-MAA utilisables en routine clinique. Puis, les propriétés physiques des ^{68}Ga -nanoparticules de carbone ont été étudiées et comparées aux données de la littérature concernant les $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -nanoparticules de carbone. La dernière partie a évalué la dosimétrie des travailleurs de médecine nucléaire prenant en charge des patients bénéficiant d'un TEP pulmonaire. Ce travail a montré que les vecteurs de la scintigraphie pulmonaire marqués au ^{68}Ga étaient adaptés pour la réalisation de TEP pulmonaires et a démontré que cet examen était facile à implémenter en médecine nucléaire. Les essais cliniques actuellement en cours le confirment.

Title : Radiopharmaceuticals development for positron emission tomography lung function assessment

Keywords : PET, MAA, carbon nanoparticle, ^{68}Ga

Abstract: The ventilation/perfusion (V/Q) single photon emission computed tomography (SPECT) is a baseline protocol to diagnose pulmonary embolism. As compared with SPECT, positron emission tomography (PET) have technical advantages. It's now possible to perform V/Q imaging with PET technology using the same carrier molecule (e.g. macroaggregated albumin (MAA) for perfusion imaging and aerosolized carbon nanoparticles for ventilation imaging) as V/Q SPECT substituting the technetium-99m ($^{99\text{m}}\text{Tc}$) with the gallium-68 (^{68}Ga). The aim of this work was to develop radiopharmaceuticals to perform V/Q PET in order to facilitate the V/Q PET implementation in nuclear medicine department.

According to literature data, a fully automated process to produce GMP [^{68}Ga]Ga-MAA for clinical use was developed in the first experimental part of this work. Then, the physical properties of ^{68}Ga -carbon nanoparticles were studied and compared to the literature data for $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -carbon nanoparticles. To finish, the radiation exposure to nuclear medicine technologists performing a V/Q PET was measured. This work has shown that carrier molecules used for V/Q SPECT were suitable for V/Q PET by substituting $^{99\text{m}}\text{Tc}$ with ^{68}Ga . Moreover, it has been shown that V/Q PET was easy to implement in nuclear medicine department as it was demonstrated by ongoing clinical trials in our nuclear medicine department.