

Gammagrafía con ^{99m}Tc -ceftizoxima en ratas normales y en ratas con absceso inducido

V. GOMES BARRETO^a, G. RABILLER^b, F. IGLESIAS^b, V. SOROA^b, F. TUBAU^a, M. ROCA^b, J. MARTÍN-COMÍN^b

^aServicio de Microbiología. Hospital Universitario de Bellvitge-IDIBELL. Instituto de Ciencias e da Saúde (Departamento de Biofunção). Universidade Federal da Bahia, Brasil. ^bServicio de Medicina Nuclear. Hospital Universitario de Bellvitge-IDIBELL. Instituto de Ciencias e da Saúde (Departamento de Biofunção). Brasil.

Resumen.—El objetivo del trabajo fue analizar la biodistribución de la ^{99m}Tc -ceftizoxima (CFT) en ratas normales y en ratas con absceso inducido: séptico o estéril.

Material y métodos: Se estudiaron 3 grupos de ratas. a) 6 ratas normales; b) 15 ratas en las que se indujo un absceso séptico con 2×10^8 unidades formadoras de colonias de *Escherichia coli*, y c) 15 ratas en las que se indujo un absceso estéril con 0,1 ml de 5% zymosan estéril. A las 24 h de la inducción del absceso se inyectaron i.v. 12 MBq de ^{99m}Tc -CFT y se registraron imágenes de cuerpo entero a los 30 min y 1, 2, 4 y 6 h p.i. Se dibujaron áreas de interés y se calculó el índice lesión/fondo. En las 6 ratas normales se siguió el mismo procedimiento y además al finalizar las últimas imágenes se sacrificaron y se extrajeron riñones, hígado, bazo, corazón pulmones y un fragmento de músculo. Cada órgano, fue pesado, cortado y se midió la actividad que contenía. Paralelamente se analizó la actividad biológica del antibiótico marcado y la unión del mismo a las bacterias *E. coli* y *Staphylococcus aureus*.

Resultados: Se observó eliminación biliar elevada en todos los animales. El conteo de los órganos mostró la mayor actividad en riñones y actividad muy baja en músculo. El índice medio de actividad lesión/fondo (Media \pm d.e.) a los 30 min, 1, 2, 4 y 6 h fue $2,60 \pm 0,36$, $2,67 \pm 0,66$, $2,60 \pm 0,58$, $2,78 \pm 0,84$, $3,24 \pm 1,00$ en el absceso séptico y $2,37 \pm 0,39$, $2,10 \pm 0,38$, $1,97 \pm 0,34$, $1,82 \pm 0,25$, $1,65 \pm 0,23$ en el absceso estéril. La captación de ^{99m}Tc -CFT fue significativamente mayor en el absceso séptico que en el estéril ($p < 0,05$). La captación de ^{99m}Tc -CFT en el absceso séptico se incrementa con el tiempo hasta las 6h, mientras que en el estéril disminuye con el tiempo.

Conclusión: La gammagrafía con ^{99m}Tc -CFT permite diferenciar la inflamación estéril de la infección y se podría aplicar al diagnóstico de la infección osteo-articular. La elevada eliminación renal y biliar limita su aplicación en abdomen.

PALABRAS CLAVE: ^{99m}Tc -ceftizoxima. Infección. Modelo animal.

Recibido: 1-2-05.

Aceptado: 23-3-05.

Correspondencia:

J. MARTÍN-COMÍN
Hospital Universitario de Bellvitge
Servicio de Medicina Nuclear
Feixa Llarga, s/n
Hospitalet de Llobregat. 08907 España
E-mail: jmartincomin@csub.scs.es

^{99m}Tc -CEFTIZOXIME SCINTIGRAPHY IN NORMAL RATS AND ABSCESS INDUCED RATS

Summary.—This study aimed to investigate the biodistribution of the ^{99m}Tc -ceftizoxime in normal rats and in rats bearing septic y sterile induced abscess.

Material y methods: Three groups of rats were studied. a) Six normal rats b) 15 rats with *E. coli* induced abscess and c) 15 rats with sterile zymosan induced abscess. Septic abscess was induced with 2×10^8 colony forming units de *E. coli* y sterile one with 0.1 mL de 5% sterile Zymosan. 24 h after the abscess induction, 12 MBq de ^{99m}Tc -CFT were injected iv. and whole body images were collected at 30 min, 1, 2, 4 and 6 h p.i.. Areas of interest were drawn and lesion/background index was calculated. The 6 normal rats were scanned at the same times, killed at 6 h p.i. and kidney, liver, spleen, lung, heart and muscle activity were measured. Each organ was weighed, cut and its activity measured. Parallely, the biological activity of the labeled antibiotic and its binding to the *E. coli* and *S. aureus* bacteria were analyzed.

Results: High biliary excretion was seen in all rats. Organ measurement showed the maximal uptake in kidney and very low uptake in muscles. Mean \pm s.d abscess/background ratio at 30 min, 1, 2, 4 and 6 h were 2.60 ± 0.36 , 2.67 ± 0.66 , 2.60 ± 0.58 , 2.78 ± 0.84 , 3.24 ± 1.00 for septic abscess and 2.37 ± 0.39 , 2.10 ± 0.38 , 1.97 ± 0.34 , 1.82 ± 0.25 , 1.65 ± 0.23 for aseptic abscess. The ^{99m}Tc -CFT uptake was significantly higher in the septic abscess than in sterile one ($p < 0.05$). The ^{99m}Tc -CFT uptake in the septic abscess remains stable or increases until along the 6 h. The ^{99m}Tc -CFT uptake in the aseptic abscess decreases along the time.

Conclusions: The scintigraphy with ^{99m}Tc -CFT seems able to differentiate sterile inflammation from infection. High biliary excretion limits its application in abdomen. Main application could be diagnosis of osteoarticular infection.

KEY WORDS: ^{99m}Tc -ceftizoxime. Infection. Animal model.

INTRODUCCIÓN

El diagnóstico preciso de la infección es un reto cotidiano en la práctica médica. De hecho, la infección es una de las principales causas de muerte, especialmente en los países del tercer mundo y en pa-

cientes con déficits inmunológicos¹. El diagnóstico precoz y preciso es importante porque permite un tratamiento precoz y específico, lo que minimiza la morbilidad y la mortalidad de la infección.

Son numerosos los métodos que se han aplicado, en la búsqueda de este objetivo:

– Las pruebas de laboratorio son sensibles, pero no específicas de infección. La velocidad de sedimentación globular y la proteína C reactiva se incrementan no tan sólo en la infección, sino también en muchas otras enfermedades.

– Con relación a las técnicas de imagen, la radiología convencional, la ecografía, la tomografía computarizada y la resonancia magnética permiten el diagnóstico de infección/inflamación cuando ya han aparecido alteraciones estructurales, pero son incapaces de diagnosticar la infección en los estadios iniciales.

La Medicina Nuclear (MN) es la única técnica de imagen que permite un diagnóstico precoz de la inflamación, antes de que ocurran cambios anatómicos. Desgraciadamente, las exploraciones de MN no son específicas para la infección y son incapaces de diferenciar entre inflamación estéril e infección. El citrato de ⁶⁷Ga, los leucocitos marcados in vitro (con ¹¹¹In o con ^{99m}Tc), la inmunoglobulina policlonal inespecífica, se acumulan tanto en la inflamación estéril como en la séptica²⁻⁴. En la práctica clínica, en general, el diagnóstico de infección se establece combinando técnicas (p. ej., gammagrafía ósea y con leucocitos marcados) e incluyendo en el proceso diagnóstico los datos del laboratorio.

En los últimos años se ha presentado la Tc-99m-1 ciprofloxacina (infecton[®]) como un agente que se incorpora de forma específica en los focos de infección y permite diferenciar la inflamación estéril de la séptica⁵. Los resultados publicados, si bien algo controvertidos, en la infección osteo-articular han sido prometedores⁶⁻⁸.

Continuando con esta línea de marcaje antibiótico, hemos desarrollado un método de marcaje de ceftizoxima con ^{99m}Tc⁹⁻¹⁰. La ceftizoxima es una cefalosporina de tercera generación activa contra un amplio espectro de microorganismos.

El objeto de este trabajo es presentar nuestra experiencia en la utilización de este antibiótico marcado para diferenciar inflamación estéril de infección.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se han estudiado 3 grupos de ratas, Sprague-Dawley con un peso de 250-300 g.

– Grupo control: 6 ratas sanas.

– Grupo de absceso séptico: 15 ratas en las que se indujo un absceso en el muslo por inoculación intramuscular de 0,1 ml de suero salino fisiológico conteniendo $2,8 \times 10^8$ unidades formadoras de colonias (UFC) de *Escherichia coli*.

– Grupo de absceso estéril: 15 ratas en las que se indujo un absceso estéril en el muslo por inyección intramuscular de 0,2 ml de zymosan al 5 % en solución salina fisiológica.

Preparación de la ceftizoxima

La ceftizoxima se marcó según el protocolo publicado⁹. Brevemente:

– 2,5 mg de ceftizoxima se diluyen en 2,5 ml de H₂O.

– Se añade 6,25 mg Na-Ditionito en 0,5 ml 0,5 % NaHCO₃.

– Se añade aproximadamente 300 MBq de Tc-99m en 0,25 ml se ajusta el pH entre 7,8 y 8,0 con 0,3 ml de NaOH 0,1N.

– Se incuba durante 5 minutos a 100 °C, y se mantiene a temperatura ambiente.

– Se calcula la eficiencia de marcaje y se inyecta.

Unión a las bacterias

Para analizar el posible mecanismo de acción se estudio la fijación del antibiótico marcado a la *E. coli* y al *S. aureus*, según el siguiente protocolo:

– Se prepararon 6 viales con una solución de 1 mL de triptocosa de soja conteniendo 10⁹ UFC de *E. coli*. A cada vial se le añadieron 50 ml, 35,7 µg del antibiótico marcado y se incubaron durante 2, 4-6 y 24 h a 37°. Tras la incubación se filtró la solución utilizando un filtro de 0,22 µm. Seguidamente se lavó el filtro con 10 mL de suero salino fisiológico y se midió la actividad en el filtro y en la solución filtrada. La actividad retenida en el filtro se consideró que correspondía al antibiótico marcado unido a las bacterias. Se expresa como porcentaje retenido en el filtro con respecto a la actividad total.

– Se repitió el mismo procedimiento en 6 viales conteniendo 10¹⁰ UFC de *S. aureus*.

Exploración gammagráfica

A las 24 h de la inducción del absceso las ratas fueron anestesiadas mediante una inyección subcutánea de 250 mg de uretano. Seguidamente se les administró 12 MBq (0,1 ml) de ^{99m}CFT en una vena de la cola. A continuación las ratas se inmovilizaron en un soporte rígido, en decúbito prono y se trasladaron a la gammacámara.

Se registraron imágenes de cuerpo entero a los 30 min y 1, 2, 4 y 6 h p.i. Se utilizó una gammacámara SMV DS7 equipada con colimador de 140 KeV y alta resolución. Se utilizó una ventana simétrica del 15 % centrada en 140 KeV. Tras la adquisición las imágenes se almacenaron en una matriz de 256 × 256.

Se dibujaron regiones de interés (ROI) sobre riñón, vejiga, absceso y muslo contralateral y se calcularon los índices de actividad.

Estudio de la biodistribución

A las 6 h p.i., una vez registradas las imágenes, los 6 animales del grupo de control se sacrificaron mediante la administración intraperitoneal de una dosis letal de uretano. Inmediatamente después se extrajeron

Tabla 1

ACTIVIDAD BIOLÓGICA DEL ANTIBIÓTICO MARCADO Y NO MARCADO

	Marcado	Sin marcar
<i>Escherichia coli</i>	24,8 ± 0,4 (24,5-25,0)	29,9 ± 0,4 (29,5-30,0)
<i>Staphylococcus aureus</i>	25,6 ± 6,0 (21-35)	27,6 ± 6,4 (21-37)

Media ± desviación del diámetro (mm) del halo de inhibición (valores máximo y mínimo).

Tabla 2

BIODISTRIBUCIÓN DE LA Tc-^{99m}-CEFTIZOXIMA A LAS 6 h p.i.

Órgano	% ATI/g
Riñón derecho	5,56 ± 1,55
Riñón izquierdo	5,31 ± 1,70
Hígado	0,45 ± 0,15
Bazo	0,24 ± 0,11
Pulmones	0,16 ± 0,05
Corazón	0,08 ± 0,03
Músculo	0,05 ± 0,03

% ATI/g: porcentaje de la actividad en el órgano por gramo con respecto a la actividad administrada.

el corazón, el bazo, el hígado, el pulmón y ambos riñones. Cada órgano se colocó en una pieza estéril, se pesó y se cortó en fragmentos de aproximadamente 1 cm³. Veinticuatro horas después se midió la actividad de cada fragmento en un contador gamma. Simultáneamente se midió una alícuota de la dosis inyectada para efectuar la corrección por decaimiento. La actividad en cada muestra se expresa como el porcentaje de la actividad en el órgano por gramo de tejido con relación a la actividad administrada (% ATI /g).

Actividad bactericida

Con el fin de confirmar la conservación de la actividad biológica del antibiótico se midió la actividad bactericida utilizando discos de difusión de agar que contenían 10,5 µg de antibiótico marcado, o la misma cantidad de antibiótico sin marcar, según el siguiente procedimiento:

1. Se prepararon 20 placas Mueller Hilton. Diez conteniendo 1,5 × 10⁸ UFC de *Escherichia coli* ATCC 25922 y 10 conteniendo 7 × 10¹⁰ UFC de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.
2. Las placas se dejaron secar durante 15 min.
3. Se colocaron los discos de antibiótico marcado y sin marcar sobre la superficie de las placas y se incubaron durante 24 h a 37 °C.
4. A las 24 h se midió el diámetro del halo de inhibición del antibiótico marcado y sin marcar.

RESULTADOS

Se realizó un total de 46 marcajes de antibiótico, la eficiencia media de marcaje obtenida fue de 94,9 ± 2,4 %, con un rango comprendido entre 90,5-95,8 %.

Tras el marcaje el antibiótico conservó su actividad biológica frente a ambas bacterias, *E. coli* y *S. aureus*. La actividad biológica media de la ceftizoxima marcada fue el 83 ± 1,5 % de la no-marcada en el caso de *E. coli* y 93,0 ± 3,9 en el caso del *S. aureus*. La tabla 1 muestra el diámetro medio del halo de inhibición de la ceftizoxima marcada y no marcada para cada bacteria estudiada.

El conteo de la actividad de cada órgano a las 6 horas de la administración mostró la máxima actividad en riñones e hígado y actividades menores en el resto de los órganos estudiados. La tabla 2 muestra el

porcentaje medio de captación en cada órgano con relación a la actividad administrada (% ATI /g).

Por otro lado, la ^{99m}Tc-CFT demostró unirse a la bacteria viva desde las 2-3 h y en grado creciente hasta las 24 h. La unión fue algo mayor con el *S. aureus* que con la *E. coli*. La tabla 3 muestra los porcentajes de unión para cada bacteria desde las 2 hasta las 24 h p.i.

Estudio gammagráfico

Grupo control (ratas normales, n = 6)

La figura 1 muestra las imágenes de cuerpo entero de una rata normal desde los 30 min a las 6 h.

Tras la administración de la Tc-99m-CFT se observó actividad en riñón y vejiga urinaria así como en hígado y vías biliares. En las imágenes tardías se observó actividad intestinal.

Tabla 3

UNIÓN DE LA Tc-99m-CEFTIZOXIMA A LAS BACTERIAS			
	2-3 h	5-6 h	24 h
<i>Escherichia coli</i>	15,8 ± 0,6 (14,8-16,4)	19,2 ± 2,3 (17,2-23,2)	17,5 ± 1,2 (15,6-18,0)
<i>Staphylococcus aureus</i>	11,2 ± 9,4 (3-18)	26,8 ± 13,52 (6-24)	29,2 ± 11,7 (15-36)

Valores de media ± desviación estándar y entre paréntesis valores máximo y mínimo.

Grupo de ratas con absceso estéril

La excreción urinaria y biliar del radiofármaco fue similar a la observada en el animal normal.

A los 30 min p.i. se observó actividad en el foco inflamatorio. Dicha actividad disminuyó progresivamente desde los 30 min a las 6 h p.i. (tabla 4). El índice de actividad lesión/fondo fue significativamente menor ($p < 0,05$) a las 2, 4 y 6 horas que a los 30 min p.i.

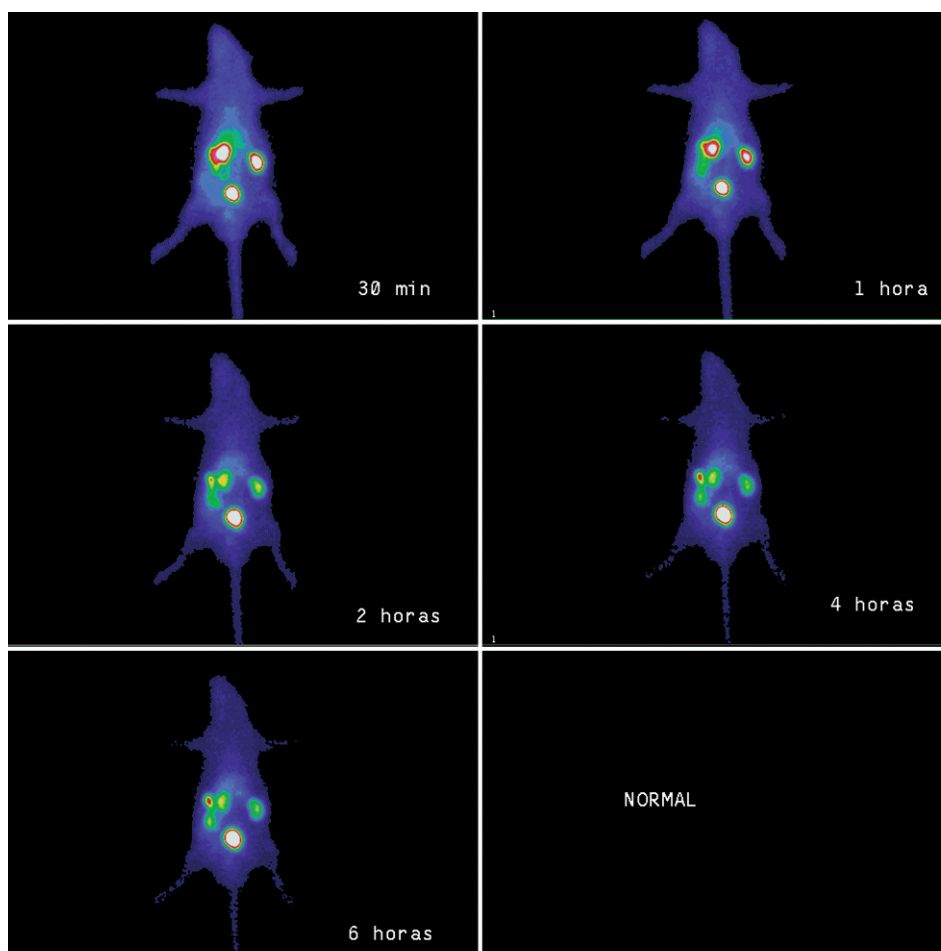


FIG. 1.—Imágenes del cuerpo entero de una rata normal desde los 30 min a las 6 h p.i. obtenidas con 250 µCi de Tc-99m-ceftizoxima.

Tabla 4
INDICE LESIÓN/FONDO EN EL ABSCESO INDUCIDO SÉPTICO Y ESTÉRIL

	30 min	1 h	2 h	4 h	6 h
<i>Escherichia coli</i>	2,60 ± 0,36 (2,1-3,0)	2,67 ± 0,66 (1,7-3,5)	2,67 ± 0,58 (1,9-3,7)	2,78 ± 0,84 (1,5-3,8)	3,24 ± 1,00 (1,7-5,1)
Zymosan	2,37 ± 0,39 (1,7-2,9)	2,10 ± 0,38 (1,6-2,6)	1,97 ± 0,34 (1,4-2,5)	1,82 ± 0,25 (1,4-2,3)	1,65 ± 0,23 (1,3-2,1)

Valores de media ± desviación estándar y entre paréntesis valores máximo y mínimo.
p < 0,05 entre ambos grupos desde los 30 min a las 6 h.

Grupo de ratas con absceso séptico

Al igual que en el grupo anterior, la excreción urinaria y biliar de la ceftizoxima marcada fue similar a la de las ratas del grupo control.

Se observó actividad en el foco infeccioso desde los 30 min p.i. hasta las 6h. Sin embargo, a diferencia del grupo con absceso estéril, el índice de actividad lesión fondo aumentó progresivamente en este intervalo y fue significativamente (p < 0,05) mayor a las 6 h que a los 30 min p.i. Además el índice de actividad para cada tiempo fue significativamente (p < 0,05) mayor en este grupo que en el grupo de absceso estéril (tabla 4).

La figura 2 muestra las imágenes de cuerpo entero de una rata con absceso estéril (izquierda) y de una rata con un absceso séptico (derecha).

La figura 3 muestra el valor medio del índice lesión/ fondo en los grupos con absceso inducido.

DISCUSIÓN

La obtención de un agente específico para el diagnóstico de la infección es un reto para los investigadores. Con este fin se están experimentando diversos agentes como los péptidos quimiotácticos¹¹, las inter-

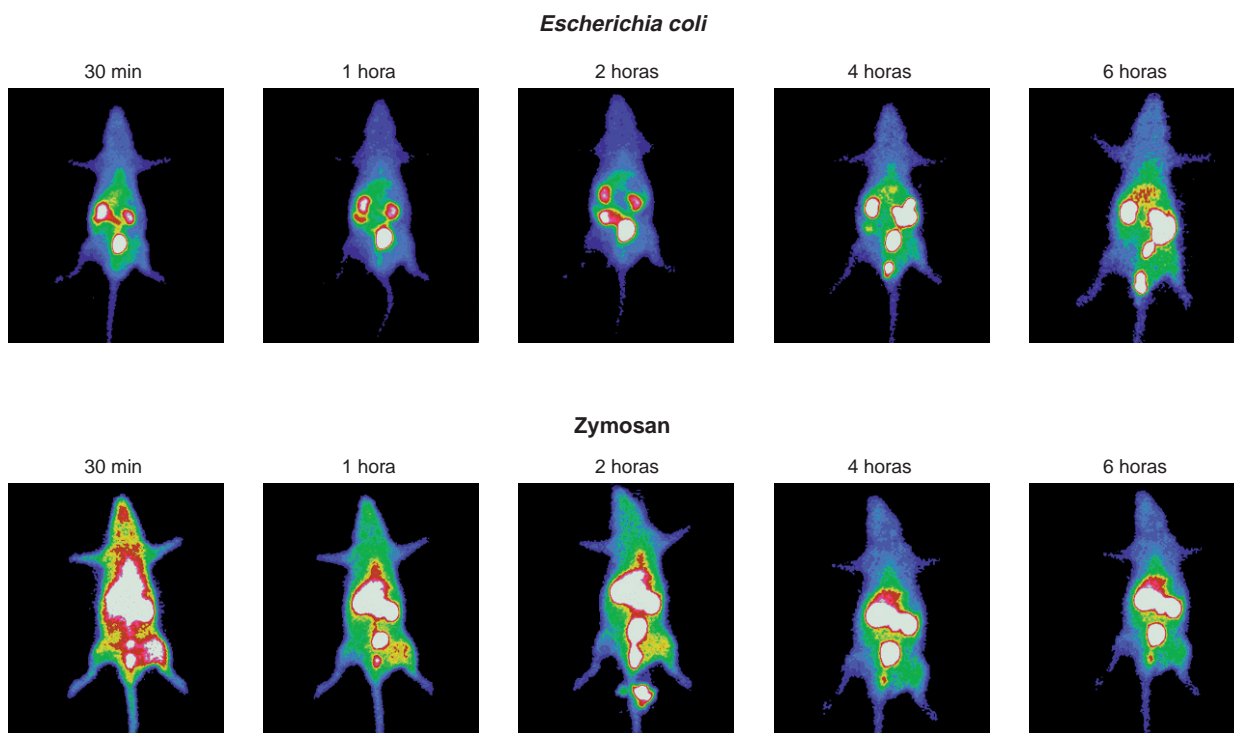


FIG. 2.—Imágenes del cuerpo entero de una rata con absceso estéril (línea inferior) y de una rata con absceso inducido por *E. coli* (línea superior) desde los 30 min a las 6 h p.i. obtenidas con 250 μ Ci de Tc-99m-ceftizoxima

leuquininas¹² y también diversos antibióticos^{5,13}. Incluso la 18F-FDG¹⁴ se está aplicando cada vez más al diagnóstico de los procesos inflamatorio-infecciosos.

La experiencia en la utilización de antibióticos marcados es relativamente corta. Sin embargo, los resultados obtenidos hasta la fecha son prometedores. La primera impresión es de que existen mecanismos específicos involucrados en el proceso de captación del radio-antibiótico en el foco infeccioso. El incremento observado en el índice de captación en los animales con infección y el descenso observado en las ratas con absceso estéril hablaría a favor de la existencia de estos mecanismos.

Nuestros resultados sugieren que si bien el incremento de la perfusión local y el aumento de la permeabilidad que acompañan a la infección pueden justificar la acumulación precoz de la ^{99m}Tc -CFT, la acumulación tardía se debe a la fijación específica del radiofármaco en el foco infeccioso.

La fijación específica a la bacteria es uno de los probables mecanismos involucrados en la captación de la ^{99m}Tc -cft, lo que ya se ha demostrado con la ^{99m}Tc -ciprofloxacina. Los resultados que muestran la unión de la ^{99m}Tc -CFT a la *E. coli* y al *S. aureus* soportan esta hipótesis. El mecanismo de acción sería, según estos resultados, similar al de la ^{99m}Tc -ciprofloxacina¹⁵, unión selectiva a bacterias vivas.

La principal desventaja de la ^{99m}Tc -CFT es la elevada eliminación urinaria y biliar. La eliminación hepática y renal representa más del 11 % de la actividad administrada y su localización abdominal limita la aplicación del antibiótico marcado en las infecciones abdominales.

Por otro lado es de interés destacar que la acumulación de ^{99m}Tc -CFT en el absceso séptico es temprana, se ve ya en las imágenes de los 30 min p.i. Esto significa que, incluyendo el proceso de marcaje que dura unos 20 min, el diagnóstico podría establecerse en aproximadamente 1 h desde la llegada del paciente al servicio de MNU. Posiblemente la obtención de imágenes tardías, permitiría una mayor exactitud diagnóstica ya que en este periodo se produciría un aumento de captación en la infección que no se produciría en la inflamación estéril. Debido a limitaciones logísticas no se han registrado imágenes a las 24 h p.i. pero la cinética observada en la unión a las bacterias sugiere que la relación lesión/fondo sería aun mayor que a las 6 h p.i.

Con relación a la biodistribución, como se ha mencionado, la máxima actividad se observa en hígado y

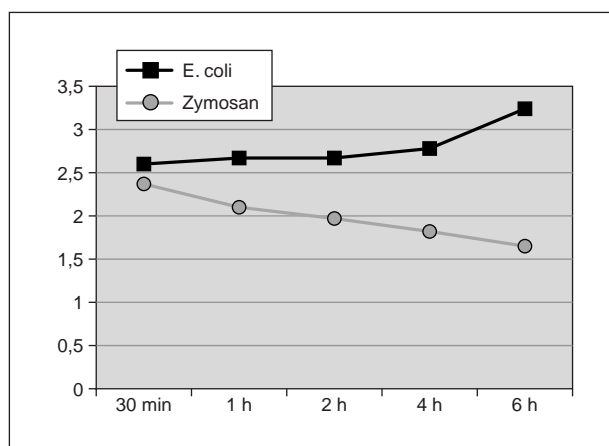


FIG. 3.—Valor medio del índice lesión/fondo en ratas con absceso estéril y séptico.

riñón —vías conocidas de eliminación de la ceftizoxima—, siendo la actividad en el resto de los tejidos estudiados realmente baja. De hecho, la acumulación en músculo a las 6 h representa tan solo el 0,05 %. Esta escasa captación muscular, combinado con la ausencia de actividad en médula ósea vista en la gammagrafía hace de la ^{99m}Tc -CFT un agente idóneo para el diagnóstico de la infección osteo-articular. Estos resultados son similares a los publicados con otros antibióticos como la ciprofloxacina¹⁶ y la sparfloxacina¹³.

La CFT marcada conserva el 83 % de la actividad del producto original. Una vez en el foco infeccioso probablemente la ^{99m}Tc -CFT se une a las bacterias vivas como lo hace experimentalmente, por tanto la visualización gammagráfica de actividad indica que la infección está todavía activa en el momento de la exploración. Sin embargo, debe recordarse que los radiofármacos diagnósticos se administran en cantidades muy pequeñas, de trazador, y no tiene por tanto ninguna acción terapéutica. De hecho, la cantidad de CFT administrada para una exploración es inferior a 3 mg y cada paciente recibiría una única inyección mientras que para un tratamiento se administran dosis cientos de veces mayores y durante varios días.

Se podría aducir que la posible aparición de resistencia a la ceftizoxima basada en la alteración de la permeabilidad de la membrana podría influir en la captación de ^{99m}Tc -CFT por la bacteria. Pero la influencia que puede tener el uso diagnóstico de este antibiótico en la posible aparición de resistencias es negligible y difícil, sino imposible, de determinar. Probablemente la influencia de los tratamientos ina-

decuados, automedicación y tratamiento incompletos es mucho mayor que una administración única y en cantidades tan pequeñas con finalidades diagnósticas.

Las potenciales ventajas del uso de la ^{99m}Tc-ceftizoxima pueden resumirse como sigue:

1. Marcaje a partir de un equipo reactivo que no requiere manipulación de sangre.
2. Marcaje sencillo y rápido. Lo que significa ahorro de tiempo y no necesitar instalaciones especiales.
3. Ausencia de captación en médula ósea. Su principal indicación sería el diagnóstico de la infección osteo-articular.
4. Específico para la infección. Permite diferenciar entre infección e inflamación estéril.
5. La pequeña cantidad de antibiótico que se administra para realizar la exploración hace prácticamente imposible ninguna influencia en el tratamiento o en la aparición de resistencias.

En conclusión los resultados presentados justifican y hacen necesarios la realización de estudios más amplios en la clínica.

BIBLIOGRAFÍA

1. Sculier JP, Weerts D, Klasters KYJ. Causes de death in febrile granulocytopenic cancer patients receiving empiric antibiotic therapy. *Eur J Cancer Clin Oncol*. 1984;20:55-60.
2. Datz FL. The current status of radionuclide, infection imaging. En: Freeman LM, editor. *Nuclear medicine annual*. New York: Raven Press; 1993. p. 47-76.
3. Datz FL. Indium-111-labelled leucocytes for the detection of infection: current status. *Semin Nucl Med*. 1994;24:92-109.
4. Becker W. The contribution of nuclear medicine to the patient with infection. *Eur J Nucl Med*. 1995;22:1195-211.
5. Solanki KK, Bomanji J, Siraj Q, Small M, Britton KE. Tc-99m "Infecton". A new class of radiopharmaceutical for imaging infection. *J Nucl Med*. 1993;34:119P.
6. Britton KE, Vinjamuri S, Hall AV, Solanki KK, Siraj QH, Bomanji J, et al. Clinical evaluation of technetium-99m infecton for localization of bacterial infection. *Eur J Nucl Med*. 1997;24:553-6.
7. Britton KE, Wareham DW, Das SS, Solanki KK, Amaral H, Bhatnagar A, Katamihardja AH, Malamitsi J, Moustafa HM, Soroa VE, Sundram FX, Padhy AK. Imaging bacterial infection with (99m)Tc-ciprdeloxacin (Infecton). *J Clin Pathol*. 2002;55:817-23.
8. Sarda L, Cremieux AC, Lebellec Y, Meulemans A, Lebtahi R, Hayem G, Genin R, Delahaye N, Hutten D, LeGuludec D. Inability of Tc-99m-cyprdeloxacin to discriminate between septic and sterile osteoarticular diseases. *J Nucl Med*. 2003;44:920-6.
9. Gomes Barreto V, Iglesias F, Roca M, Tubau F, Martín-Comín J. Marcaje de ceftizoxima con Tc-99m. *Rev Esp Med Nucl*. 2000;19:479-83.
10. Gomes Barreto V, Iglesias F, Roca M, Tubau F, Martín-Comín J. Biodistribution of the Tc-99m-ceftizoxime in animal model of infection and inflammation. *Eur J Nucl Med*. 2000;27:970.
11. Fischman AJ, Babich JW, Rubin RH. Infection imaging with technetium-99m-labelled chemotactic peptide analogs. *Semin Nucl Med*. 1994;24:154-68.
12. Van der Laken CJ, Boerman OC, Oyen WJG, Van der Vem, et al. The kinetics of radiolabelled interleukin-8 in infection and sterile inflammation. *Nuclear Medicine Communications*. 1998;19:271-81.
13. Singh AK, Verma J, Bhatnagar A, Ali A. Tc-99m-labelled sparfloxacin: a specific infection imaging agent. *WJNM*. 2003;2:103-9.
14. Chacko TK, Zhuang H, Nakhoda KZ, Moussavian B, Alavi A. Applications of FDG positron emission tomography in the diagnosis of infection. *Nucl Med Commun*. 2003;24:615-24.
15. Das SS, Hall AV, Wrachman DW, Britton KE. Infection imaging with radiopharmaceuticals in the 21st Century. *Braz Arch Biol Technol*. 2002;45:25-37.
16. De Winter F, Van de Wiele C, Dumont F, Solanki K, Britton KE, Slegers G, Dierckx RA, Thierens H. Biodistribution and dosimetry of Tc-99m-cyprdeloxacin, a promising agent for the diagnosis of bacterial infection. *Eur J Nucl Med*. 2001;28:570-4.