مجله‌ی علوم و فنون هسته‌ای
۷۱، ۱۳۹۴، ۶۰-۶۶

J. of Nucl Sci. and Tech.
71, 2015, 60-66

تعیین شرایط بهینه‌ی ریفامپیسین نشان‌دار شده با تکنسیم-۹۹m برای کاربردهای تصویربرداری از عفونت سلی

علی بادبرین[۱]، امیررضا جلیلیان*[۲]، فریبا جوهری دها[۲]، حسن یوسف‌نیا[۲]، میترا اطهری علاف[۱]

۱. گروه مهندسی پرتو پزشکی، دانشکده فنی و مهندسی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، صندوق پستی: ۷۷۵-۱۴۵۱۵، تهران ـ ایران

۲. پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای، سازمان انرژی اتمی، صندوق پستی: ۳۴۸۶-۱۱۳۶۵، تهران ـ ایران

چکیده: تهیه و توسعه‌ی عامل‌های تشخیص عفونت‌ها در تشخیص گونه‌های مقاوم به درمان، به دلیل مرگ و میر ناشی از عفونت این نوع گونه‌ها از جمله باکتری قارچی سل ضرورت مهمی در مطالعه‌های بالینی تلقی می‌شود. در این مطالعه، شرایط مختلف محیطی برای نشان‌دارسازی سریع و کارآمد آنتی‌بیوتیک ریفامپیسین به وسیله‌ی تکنسیم-۹۹m برای استفاده‌ی نهایی از آن در تشخیص بالینی عفونت‌های سل بهینه‌سازی شد. خلوص رادیوشیمیایی به روش کروماتوگرافی سریع لایه‌ی نازک بر روی کاغذ واتمن شماره‌ی ۱ در حلال متیل‌اتیل‌کتون و سالین نرمال کنترل شد. عامل‌های زمان، دما، مقدار یون قلع و pH محیط در فرایند نشان‌دارسازی مورد مطالعه قرار گرفتند؛ دمای اتاق (۲۷ درجه‌ی سانتی‌گراد)، pH=۷، مقدار ۲۰ میکروگرم قلع کلرید، شرایط بهینه برای نشان‌دارسازی یک میلی‌گرم ریفامپیسین با مقدار ۲ میلی‌کوری تکنسیم-۹۹m به شکل پرتکنتات تازه دوشیده شده از مولد را فراهم نمود. تحت این شرایط خلوص رادیوشیمیایی کمپلکس نشان‌دار ۸۵ تا ۹۰٪ تعیین شد. کمپلکس نشان‌دار پایداری قابل توجهی در حضور سرم انسانی در ۳۷ درجه و در محلول نهایی رادیودارو تا ۶ ساعت از خود نشان داد.

کلیدواژه‌ها: *ریفامپیسین، تکنسیم-۹۹m، نشان‌دارسازی، عفونت سلی*

Determination of optimized conditions for ^{99m}Tc-labeled riphampicin Preparation for tuberculosis imaging applications

A. Badbarin[1], A.R. Jalilian*[1], F. Johari Daha[1], H. Yousefnia[1], M. Athari Alaf[2]

1. Department of Medical Radiation Engineering, Science and Research Branch, Islamic Azad University, P.O.Box: 14515-775, Tehran – Iran

2. Nuclear Science and Technology Research Institute, AEOI, P.O.Box: 11365-3486, Tehran – Iran

Abstract: Developing of new infection imaging agents is a mandate in the detection of resistant species in the clinic due to the mortality of various new strains of bacteria including mycobacterium tuberculosis. In this study, various conditions were optimized for the rapid and efficient labeling of rifampicin antibiotic labeled with Tc-99m for ultimate use in infection imaging. Radiochemical purities were checked by RTLC using methyl ethyl ketone, and normal saline on Whatman No.1 paper. The time, temperature, ligand concentration, stannous ion amount, pH were optimized in the radiolabeling process and the best conditions were room temperature, pH 7, 20 micrograms of stannous chloride for 1 mg of rifampicin solid and 20 mCi of freshly milked technetium-99m pertechnetate. The complex demonstrated satisfactory stability in the presence of human serum and final formulations for 6 hours.

Keywords: ***Rifampicin, Technetium-99m, Radiolabeling, Tuberculosis***

*email: ajalili@aeoi.org.ir

تاریخ دریافت مقاله: ۹۳/۲/۲۹ تاریخ پذیرش مقاله: ۹۴/۲/۲۱

۱. مقدمه

بیماری سل یکی از بیماری‌های میکروبی است که تشخیص به موقع آن برای دارودرمانی مناسب یکی از مهم‌ترین معضلات سده‌ی جدید میلادی شناخته شده است و لذا نیاز به درک راه‌کارهای جدید تشخیصی از جمله پزشکی هسته‌ای، یکی از این موردها است [۱]. آژانس بین‌المللی انرژی اتمی در تدارک یک برنامه‌ی جامع برای حل این مشکل با بهره‌گیری از پزشکی هسته‌ای است [۲].

مقاومت درشت- باکتری سل در برابر داروهای ضد سل در کشورمان و در جهان در حال افزایش است. نتایج یک پژوهش در مبتلایان به بیماری سل و نقش مقاومت دارویی و میزان سازگاری بیماران با روند درمانی در استان مازندران، لزوم تعیین حساسیت دارویی و انجام نظارت دقیق بر روند درمانی بیماران مبتلا به سل را به دلیل مساعد بودن شرایط اقلیمی در بسیاری از نقاط کشور برای بقای باکتری نشان داد [۳]. یک راه‌کار مناسب تشخیص بیماری‌های عفونی به روش هسته‌ای، استفاده از آنتی‌بیوتیک‌های نشان‌دار است [۴].

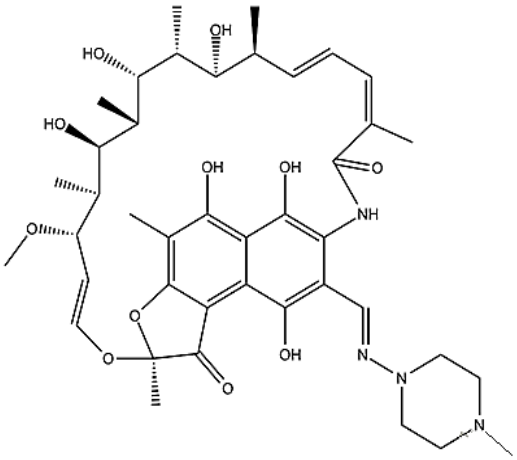
در گذشته بسیاری از آنتی‌بیوتیک‌ها توسط پژوهش‌گران نشان‌دار شده و در تشخیص بیماری‌های عفونی در انسان و یا در مدل‌های جانوری مورد استفاده قرار گرفته‌اند. مهم‌ترین این رادیوداروها سیپروفلوکساسین است که از سال ۱۹۹۲ در ایالات متحده با تکنسیم-۹۹m نشان‌دار شده و با نام کیت انفکسیون[(۱)] در انسان به کار رفته است [۵]. در کشور ما نیز این رادیودارو تولید و به بهره‌برداری رسیده است [۶]. بسیاری از ترکیب‌های نشان‌دار، دیگر آنتی‌بیوتیک‌ها از جمله ونکومایسین نیز توسط گروه‌های پژوهشی داخلی به مرحله‌ی آزمون حیوانی رسیده است [۷، ۸]. دیگر گروه‌های پژوهشی نشان‌دارسازی آنتی‌بیوتیک‌های هم‌گروه سیپروفلوکساسین را انجام داده‌اند، اما برتری آن‌ها در آزمون‌های جانوری نسبت به خود سیپروفلوکساسین تاکنون به اثبات نرسیده است [۹].

تکنسیم-۹۹m به دلایل زیادی متداول‌ترین رادیونوکلید در مصارف پزشکی هسته‌ای است، نیم- عمری در حدود ۶ ساعت دارد که در عین حال که زمانی طولانی برای بررسی فرایندهای سوخت و سازی است، زمان کوتاهی برای کمینه‌سازی دز دریافتی بدن است. تکنسیم-۹۹m با گسیل پرتوهای گامای کم‌انرژی (۱۴۰ keV) با بهره‌ی بالا (٪۹۰) و الکترون واپاشیده می‌شود. پرتو گامای کم‌انرژیی از بدن خارج می‌شود که به راحتی آشکارسازی می‌شود [۱۰].

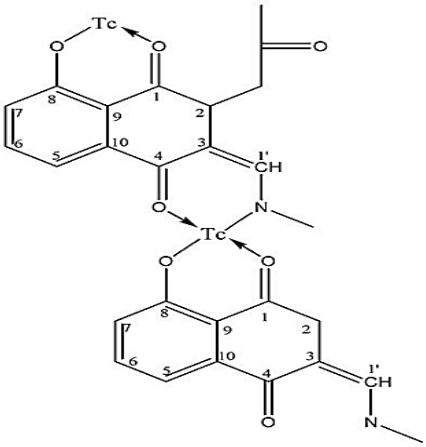
با توجه به اهمیت رادیوداروهای تشخیصی عفونت‌های باکتری قارچی سل و حساسیت‌های پیش از این ذکر شده، مطالعه‌های گسترده‌ای بر روی آنتی‌بیوتیک‌های نشان‌دار ویژه‌ی این نوع ریزجانداران در کشورهای جهان دوم مبتلا به شکل‌های مقاوم به درمان این عفونت‌ها آغاز و به نتیجه‌های مناسبی نیز رسیده‌اند. برای مثال ترکیب مزدوجی از ایزونیازید (آنتی‌بیوتیک مهم درمانی در بیماری سل) و مولکول چنگکی DTPA تولید و برای نشان‌دارسازی با تکنسیم-۹۹m به کار رفته است که البته پایداری این ترکیب مزدوج با مشکل مواجه بوده است [۱۱]. مطالعه‌های محدودی برای نشان‌دارسازی دو آنتی‌بیوتیک ایزونیازید و اتامبوتول با تکنسیم-۹۹m بدون گزارش گسترده‌ی نتایج و بدون استفاده از ماده‌ی کی‌لیت‌ساز انجام شده که به نظر می‌رسد مشکل اصلی، پایداری محصول بوده است [۱۲]. دو آنتی‌بیوتیک پیچیده‌ی دیگر یعنی، استرپتومایسین و اریترومایسین نیز بدون تشریح نتایج زیستی نشان‌دارسازی و گزارش شده‌اند [۱۳].

در مهم‌ترین این مطالعه‌ها، ترکیب نشان‌دار موردنظر این مطالعه یعنی، آنتی‌بیوتیک ریفامپیسین (شکل ۱) نشان‌دار شده با تکنسیم-۹۹m دارای ویژگی‌های مناسب تولید و تصویربرداری بوده و مطالعه‌های جالبی برای تهیه‌ی کیت آن انجام و با کیت‌های سیپروفلوکساسین و چند کیت تشخیص عفونت‌ها همراه با تصویربرداری گزارش شده است [۱۴]. به دلیل همین موفقیت نسبی، در این پژوهش نیز سعی شده است این ترکیب برای مصارف داخل کشور مورد بررسی اولیه نشان‌دارسازی قرار گیرد. در این مقاله، روش بهینه‌ی تولید و کنترل کیفی یک ترکیب نشان‌دار از ریفامپیسین (یکی از مهم‌ترین داروهای سل) با تکنسیم-۹۹m مورد بحث قرار گرفته است.

(الف)



(ب)



شکل ۱. (الف) ساختار شیمیایی آنتی‌بیوتیک ریفامپیسین و (ب) بخشی از ساختار احتمالی ترکیب نشان‌دار.

۲. مواد و روش‌ها

آنتی‌بیوتیک ریفامپیسین از شرکت داروسازی ایران دارو تهیه شد. محلول‌های نرمال سالین و بافر به کار رفته برای نشان‌دارسازی از خلوص بالا برخوردار بوده و با صافی‌های کویتکس[1] ۰٫۲۲ میکرون صاف شدند. از دستگاه کروماتوگرافی لایه‌ی نازک (TLC Foil F ۱۵۰۰/LS ۲۵۴, Germany) و کاغذ سیلیکاژل استفاده شد. در کروماتوگرافی لایه‌ی نازک سریع (ITLC)، کاغذهای واتمن شماره‌ی ۱ با استفاده از پوینده‌ی مدل (Bioscan AR۲۰۰۰, France) خوانده شد. ^{99m}Tc به شکل سدیم پرتکنتات ($Na^{99m}TCO4$) و از طریق شویش مولد تجاری موجود در کشور (پارس ایزوتوپ- ایران) تهیه و مورد استفاده قرار گرفت.

۱.۲ کنترل کیفی نمونه‌ی آنتی‌بیوتیک ریفامپیسین

با استفاده از کروماتوگرافی لایه نازک بر روی سیلیکاژل، کنترل کیفی شیمیایی ماده‌ی اولیه‌ی ریفامپیسین انجام شد. برای انجام این مهم، از فاز متحرک شامل مخلوط اتیل استات و هگزان به نسبت حجمی ۲۵:۷۵ استفاده شد. نتایج نشان داد که هیچ‌گونه ناخالصی قابل مشاهده در ماده‌ی اولیه‌ی جامد استفاده شده در نشان‌دارسازی وجود نداشت. Rf ماده‌ی اصلی برابر ۰٫۶۶ تعیین شد [۱۵].

۲.۲ نشان‌دارسازی ریفامپیسین با تکنسیم-۹۹m

ابتدا ۲۰ میلی‌گرم قلع دوآبه به ۱۰۰ میکرولیتر محلول هیدروکلریک اسید ۰٫۱ مولار اضافه و در حمام آب گرم در دمای ۸۰ درجه‌ی سانتی‌گراد تا انحلال کامل حرارت داده شده با آب مقطر به حجم ۱۰ میلی‌لیتر رسانیده شد تا محلولی با غلظت ۲ میکروگرم بر میکرولیتر حاصل شود. مقدار ۴ میلی‌گرم پودر تازه‌ی ریفامپیسین در ۱ میلی‌لیتر آب مقطر حل و ۱۰ میکرولیتر از محلول قلع کلرید تهیه شده به آن اضافه شد. pH مخلوط توسط هیدروکلریک اسید و یا سود ۰٫۱ مولار تنظیم شد. آن‌گاه ۱۵۰ میکرولیتر (۳۷۰ مگابکرل) از محلول تازه دوشیده شده از مولد تکنسیم به مخلوط افزوده شده و در دماهای مختلف با استفاده از کروماتوگرافی کاغذی سریع برای مدت ۲ ساعت تحت کنترل رادیوشیمیایی قرار گرفت.

۳.۲ کنترل رادیوشیمیایی

۱.۳.۲ تعیین مقدار پرتکنتات آزاد

در محلول نشان‌دار شده تعیین درصد پرتکنتات آزاد با استفاده از کروماتوگرافی کاغذی سریع و فاز متحرک متیل اتیل کتون به انجام رسید. پس از خشک شدن کاغذ در دمای اتاق به مدت ۵ دقیقه و برش آن به قطعات ۱ سانتی‌متری شمارش توسط شمارنده انجام شد.

۲.۳.۲ تعیین مقدار شکل کاهیده و هیدرولیز شده‌ی تکنسیم

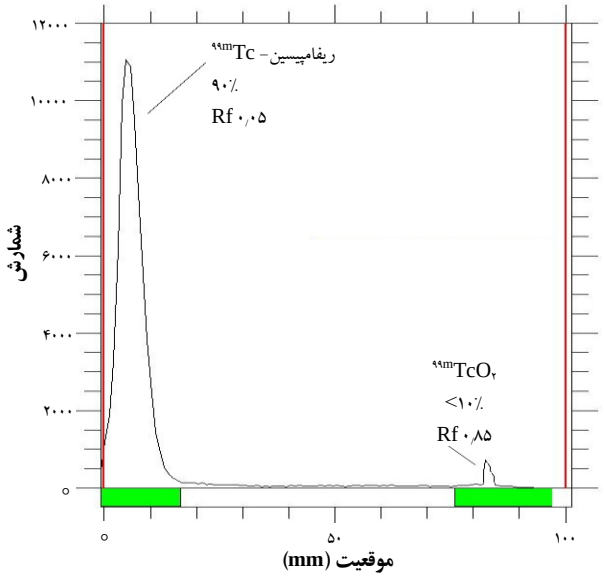
در محلول نشان‌دار شده‌ی نهایی، تعیین درصد این شکل‌ها با استفاده از کروماتوگرافی کاغذی سریع و فاز متحرک سالین نرمال به انجام رسید. کاغذ پس از خشک شدن در دمای اتاق به مدت ۵ دقیقه، و برش آن به قطعات ۱ سانتی‌متری توسط شمارنده شمارش شد.

۴.۲ بررسی پایداری کمپلکس ریفامپیسین- تکنسیم ۹۹m

بررسی پایداری کمپلکس، به وسیله‌ی کروماتوگرافی لایه‌ی نازک سریع (RTLC) انجام شد. یک نمونه از کمپلکس ریفامپیسین- تکنسیم ۹۹m (۳۷ MBq) به مدت ۲ ساعت در دمای محیط قرار داده شد و تهیه‌ی کروماتوگرام‌های پرتوزا با استفاده از کروماتوگرافی لایه‌ی نازک پرتوزا در فاصله‌های زمانی معین به انجام رسید. برای مطالعه‌ی پایداری سرم، ۵۰۰ µl از سرم تازه‌ی خون انسان پس از اضافه شدن به ۳۶٫۱ مگابکرل (۹۷۶ میکروکوری) از کمپلکس ریفامپیسین- تکنسیم- ۹۹m در یک ویال هم‌زده و در دمای ۳۷ °C به مدت ۵ ساعت گرماگذاری شده و نمونه‌های ۵ میکرولیتری برای تجزیه‌ی کروماتوگرافی لایه‌ی نازک سریع مورد استفاده قرار گرفت.

۳. یافته‌ها و بحث

در بهترین شرایط نشان‌دارسازی که در زیر به آن اشاره خواهد شد نتیجه‌های به دست آمده از کروماتوگرافی لایه‌ی نازک سریع، در فاز متحرک متیل اتیل کتون نشان داد که میزان نشان‌دارسازی ریفامپیسین با تکنسیم-۹۹m در حضور کاهنده‌ی قلع کلرید در حدود ۸۵ تا ۹۰٪ بوده است و Rf ترکیب نشان‌دار شده، ۰ تا ۰٫۰۵ بوده است، در حالی که Rf تکنسیم-۹۹m آزاد ۰٫۸ تا ۰٫۹ بود (شکل ۲).



شکل ۲. کروماتوگرام کاغذی آنتی‌بیوتیک ریفامپیسین نشان‌دار شده با تکنسیم-۹۹m. حلال متیل‌اتیل کتون؛ مدت ۳۵ دقیقه؛ فاز ثابت، کاغذ واتمن شماره‌ی ۱.

کنترل دیگر ناخالصی‌ها با استفاده از دیگر سیستم حلال یعنی سالین نرمال نشان داد که آنتی‌بیوتیک نشان‌دار در R_f = ۰٫۷ مشاهده شد و ترکیب‌هایی مانند کلوئید و شکل‌های کاهیده و هیدرولیز شده در پایین کاغذ باقی ماندند (شکل ۳).

خلوص رادیوشیمیایی ۹۰ درصد تعیین شد که در مقایسه با خلوص رادیوشیمیایی ٪۸۵ به دست آمده در مرجع [۱۴] با استفاده از کروماتوگرافی مایع با فشار بهتر البته روش نشان‌دارسازی تقریباً یکسان است اما دو ناخالصی مهم در کروماتوگرام مرجع [۱۴] مشاهده می‌شود.

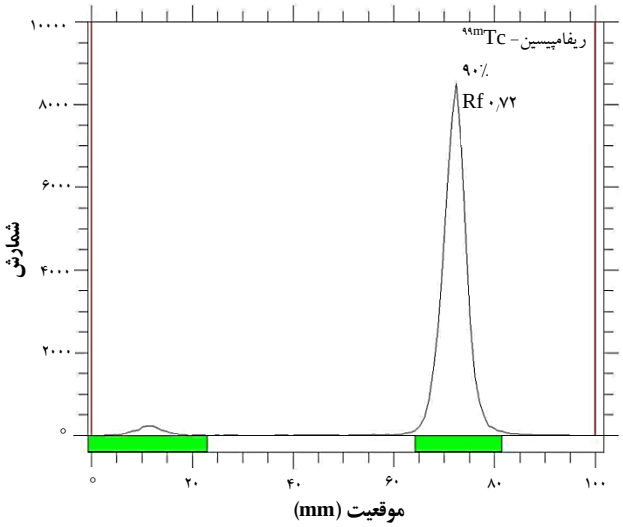
۱.۳ بهینه‌سازی شرایط

۱.۱.۳ قلع کلرید

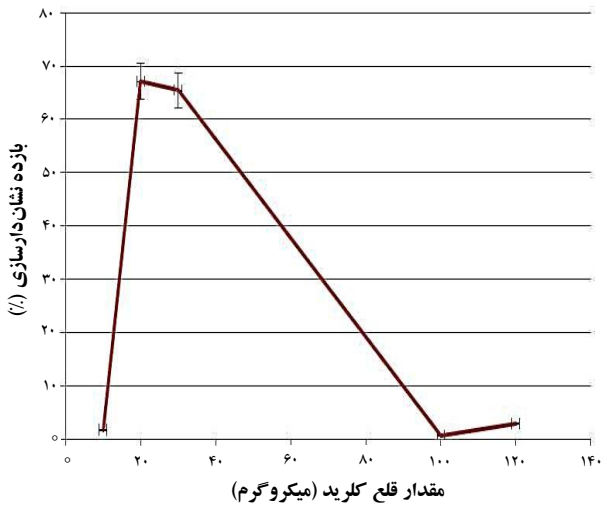
اثر قلع کلرید در نشان‌دارسازی آنتی‌بیوتیک بسیار جالب است، در حالی که مقدار کم‌تر از ۲۰ میکروگرم آن بر روی نشان‌دارسازی ترکیب بی‌اثر است و یا نتایج غیرقابل تکرارپذیری ایجاد می‌نماید حدود ۲۰ تا ۲۵ میکروگرم آن در تماس با ۴ میلی‌گرم ماده‌ی اولیه آنتی‌بیوتیک بهترین نتیجه را به دست می‌دهد (شکل ۴). به درستی مشخص نشده است که افزایش مقدار قلع چه اثر منفی در بازده نشان‌دارسازی آنتی‌بیوتیک دارد ولی ممکن است ایجاد دیگر شکل‌های کاهیده و تشکیل کمپلکس‌های جانبی فلز قلع با آنتی‌بیوتیک و ایجاد شکل‌های کمپلکسی انحلال‌پذیر از عامل‌های مهم باشد.

۲.۱.۳ pH محیط

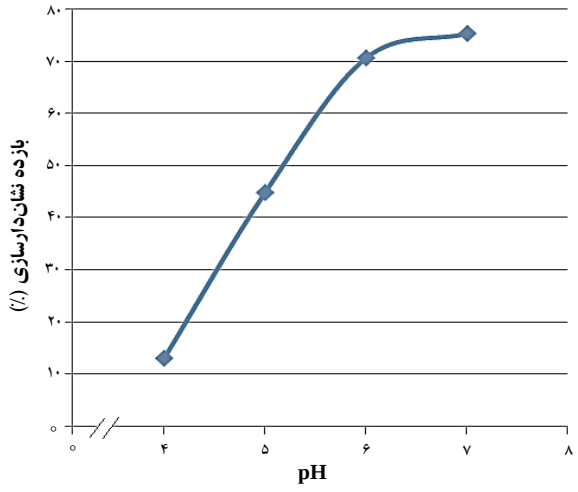
در نشان‌دارسازی آنتی‌بیوتیک و البته بسیاری دیگر از ترکیب‌ها با تکنسیم-۹۹m، pH محیط به چند صورت اثر خود را نشان می‌دهد: اول این که انحلال‌پذیری ترکیب نشان‌دارشونده تا حدود زیادی تعیین‌کننده‌ی مقدار لیگاند در دسترس برای نشان‌دارسازی است و از طرف دیگر ترکیب‌هایی مانند ریفامپیسین در pH کم‌تر از ۴، ساختار خود را ناگهان از دست می‌دهند که این عارضه خود را به صورت تغییر رنگ سریع به قرمز و افت درصد نشان‌دارسازی نشان می‌دهد. از طرفی مشاهده‌های زیادی نیز اثر pHهای بالاتر از ۸ در تخریب مقدار یون قلع در دسترس را نشان داده‌اند. بنابراین بهترین pH در گستره‌ی ۶٫۵ تا ۷ است (شکل ۵).



شکل ۳. کروماتوگرام کاغذی آنتی‌بیوتیک ریفامپیسین نشان‌دار شده با تکنسیم-۹۹m. حلال سالین نرمال؛ مدت ۳۵ دقیقه؛ فاز ثابت، کاغذ واتمن شماره‌ی ۱.



شکل ٤. اثر مقدار قلع کلرید دوآبه بر بازده نشان‌دارسازی.



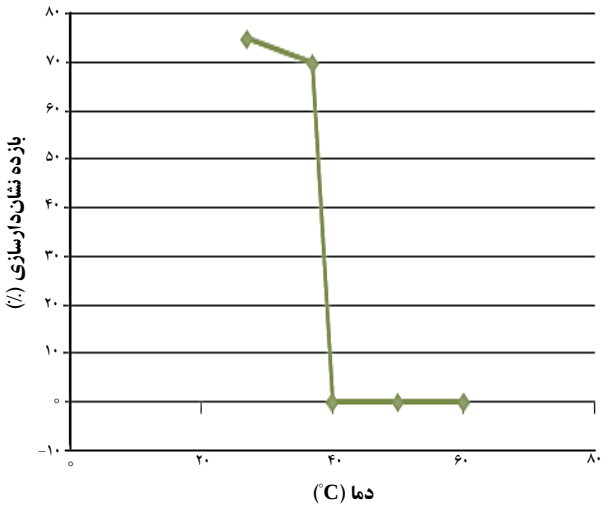
شکل ۵. اثر pH محیط بر بازده نشان‌دارسازی.

۳.۱.۳ دما

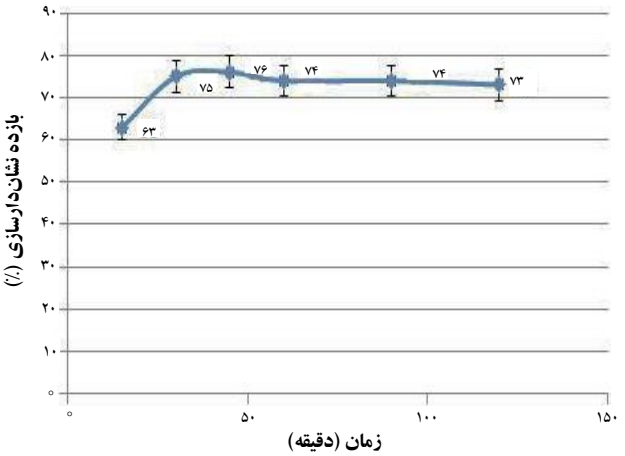
نشان‌دارسازی در دمای اتاق به نتیجه‌های مناسبی منجر شد ولی با افزایش دما تا کم‌تر از ۵۰ درجه افت زیادی در بازده نشان‌دارسازی ملاحظه شد. لازم به ذکر است که در بسیاری از مرجع‌ها، حساسیت مولکول ریفامپیسین به نور و دما ذکر شده است؛ در کنار دیگر مسایل، گرما می‌تواند عامل تخریب و عدم نیل به بازده نشان‌دارسازی مناسب باشد (شکل ۶).

٤.۱.۳ زمان

برای تعیین زمان بهینه‌ی نشان‌دارسازی از راه کروماتوگرافی، در بازه‌های زمانی مختلف تا ۲ ساعت نشان‌دارسازی در شرایط بهینه‌ی دما و مقدار قلع به انجام رسید. نتایج نشان داد که تقریباً حدود ۳۰ دقیقه نشان‌دارسازی ترکیب به بازده بیشینه‌ی خود می‌انجامد و ادامه‌ی واکنش، کمکی به افزایش بازده نمی‌کند (شکل ۷). البته در مرجع [۱۴] در ورای این زمان بازده شروع به کاهش کرده است که با موازین گرما- سینتیک هم‌خوانی ندارد. هم‌چنین مقدارهای خلوص رادیوشیمیایی مندرج در جدول مرجع [۱۴] در زمان ۳۰ دقیقه با کروماتوگرام کروماتوگرافی مایع با فشار بالا (HPLC) ارایه شده هم‌خوانی ندارد.



شکل ٦. اثر دما بر بازده نشان‌دارسازی.



شکل ۷. اثر زمان بر بازده نشان‌دارسازی (در دمای محیط).

٤. نتیجه‌گیری

با وجود شرایط گزارش شده برای تولید این آنتی‌بیوتیک نشان‌دار در مرجع‌های خارجی، روش تولید و بهینه‌سازی آن در این پژوهش کاملاً متفاوت بوده و مقدارها و شرایط دارای اختلاف‌هایی است. این امر می‌تواند به دلایل مختلفی از جمله تفاوت کیفیت پودر اولیه‌ی دارویی از نظر مقدار آب و یا کیفیت قلع مصرفی باشد؛ با این حال نتیجه‌های گزارش شده توسط گروه پژوهشی پاکستانی، توسط دیگر پژوهش‌گران در دیگر منطقه‌های جهان تکرار نشده است و مکاتبات با این پژوهش‌گران بدون پاسخ ماند. به هر حال از آن جایی که این پژوهش‌ها منجر به ارایه‌ی کیت انسانی و مطالعه‌های بالینی نشده است، احتمال دارد نتایج پژوهش‌گران یا تکرارپذیر نبوده و یا مجوزهای لازم را دریافت ننموده است. مطالعه‌ی حاضر نشان داد که در دمای اتاق (۲۷ درجه)، pH=۷ با مقدار ۲۰ میکروگرم کلرید قلع، یک میلی‌گرم ریفامپیسین، و ۲ میلی‌کوری تکنسیم-۹۹m به شکل پرتکنتات تازه‌ی دوشیده شده از ژنراتور خلوص رادیوشیمیایی ۸۵ تا ٪۹۰ در مدت ۳۰ دقیقه به دست می‌آید. کمپلکس نشان‌دار شده پایداری قابل توجهی در حضور سرم انسان در ۳۷ درجه و هم‌چنین در محلول نهایی تا ۶ ساعت از خود نشان داد.

پی‌نوشت‌ها

1. Infecton
2. Cativex

مرجع‌ها

[1] F.A. Drobniewski, S.M. Wilson, The pathological society of great britain and ireland, review article the rapid diagnosis of isoniazid and rifampicin resistance in mycobacterium tuberculosis- a molecular story- Med, Microbiol, 47 (1998) 189-1960.

[2] J.M. Musser, Antimicrobial agent resistance in mycobacteria: molecular genetic insights, Clinical Microbiology Reviews, 8 (1995) 496-514.

[3] M.J. Nasiri, H. Dabiri, D. Darban-Sarokhalil, M. Rezadehbashi, S. Zamani, Prevalence of drug-resistant tuberculosis in Iran: systematic review and meta-analysis, Am J Infect Control, 42 (2014) 1212-1218.

[4] http://www.naweb.iaea.org/ napc/iachem/ meetings/ meetings_tm.html TM-44702 on, Infection imaging with radiopharmaceuticals, (joint with NAHU) 2013-03-18 to 2013-03-22 U. Bhonsle/ A. Duatti, Vienna Austria.

[5] G. Tossing, ^{99m}Tc-ciprofloxacin draximage. Review IDrugs, 7(4) (2004) 374-379.

[6] Technetium [^{99m}Tc] ciprofluxacin, Injection, Powder, Lyophilized, Iranian Drug List, fdo. behdasht. gov.ir/ index.aspx? siteid=114 & pageid=29768.

[7] A.R. Jalilian, Y. Yari-Kamrani, P. Rowshanfarzad, M. Sabet, M. Kamali-dehghan, Preparation and preliminary evaluation of [^{55}Co] (II) vancomycin, Journal of Nuclear Science and Technique, 19 (6) (2008) 347-353.

[8] A.R. Jalilian, M.A. Hosseini, F. Saddadi, Evaluation of [^{201}Tl] (III) vancomycin in normal rats, Nuclear Medicine Reviews, 11 (1) (2008) 1-4.

[9] http://icnm2013.com/ files/ basic %20 science %20 program.pd.

[10] P. Richards, Technetium-99m: The early days. BNL-43197 CONF-8909193-1 (1989). New York: Brookhaven National Laboratory, Retrieved, 3 (2012).

[11] P.P. Hazari, K. Chuttani, N. Kumar, R. Mathur, R. Sharma, B. Singh, A.K. Mishra, Synthesis and Biological Evaluation of Isonicotinic Acid Hydrazide Conjugated with Diethyelene triamine penta-acetic Acid for Infection Imaging, The Open Nuclear Medicine Journal, 1 (2009) 33-42.

[12] N. Singh, M. Gulati, M. Bose, A. Bhatnagar, A.K. Singh, T. Ravindranath, In-Vitro & In-Vivo Experiments on Selective Uptake of ^{99m}Tc-INH & ^{99m}Tc-EMB in Resistant Strains of Mycobacteria (Abstracts of SNMICON 2004), Indian Journal of Nuclear Medicine, 19 (2004) 156.

[13] M.T. Ercan, T. Aras, I.S. Unsal, Evaluation of ^{99m}Tc-erythromycin and ^{99m}Tc-streptomycin sulphate for the visualization of inflammatory lesions, Int. J. Rad. Appl. Instrum. B, 19(7) (1992) 803-806.

[14] S.Q. Shah, A. Ullah Khan, M.R. Khan, Radiosynthesis and biodistribution of ^{99m}Tc-rifampicin: A novel radiotracer for in-vivo infection imaging, Applied Radiation and Isotopes, 68 (2010) 2255–2260.

[15] S.W. Husain, V. Ghoulipour, H. Sepehrian, Chromatographic behaviour of antibiotics on thin layers of an inorganic ion-exchanger, Acta Chromatographica, 14 (2004) 102-109.