



**T.C.  
CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
NÜKLEER TIP ANABİLİM DALI**

**HAYVAN MODELİNDE ENFEKSİYON VE OSTEOLASTİK  
FAALİYET ARTIŞI ALANLARINDA TC-99m İLE İŞARETLİ  
ANTİBİYOTİKLERİN KULLANILABİLİRLİĞİNİN  
ARAŞTIRILMASI**

**Dr. Gürkan ÖZER  
UZMANLIK TEZİ**

**SİVAS  
2010**





**T.C.  
CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
NÜKLEER TIP ANABİLİM DALI**

**HAYVAN MODELİNDE ENFEKSİYON VE OSTEOLASTİK  
FAALİYET ARTIŞI ALANLARINDA TC-99m İLE İŞARETLİ  
ANTİBİYOTİKLERİN KULLANILABİLİRLİĞİNİN  
ARAŞTIRILMASI.**

**Dr. Gürkan ÖZER  
UZMANLIK TEZİ**

**Prof. Dr. Taner ERSELCAN  
TEZ DANIŞMANI**

**SİVAS  
2010**

## ONAY SAYFASI

Bu tez Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırlanmış ve jürimiz tarafından Nükleer Tıp Anabilim Dalı'nda uzmanlık tezi olarak kabul edilmiştir.

**İmza**

**Üye:** Prof. Dr. Taner ERSELCAN

**Üye:** Prof. Dr.M. Zahir BAKICI

**Üye:** Doç. Dr. Bülent TURGUT

Bu tez, 01/07/2010 tarih ve 2010/3 sayılı Yönetim Kurulu Kararı ile belirlenen ve yukarıda imzaları bulunan jüri üyeleri tarafından kabul edilmiştir.

**Prof.Dr. Mehmet ŞENCAN**  
**Tıp Fakültesi Dekanı**

Tıpta Uzmanlık Tez Yazım Yönergesi, Cumhuriyet Üniversitesi Senatosu'nun 10/02/2010 tarih ve 2010/1-2 sayılı kararı ile kabul edilerek yürürlüğe girmiştir.

## İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	iv
ÖZET.....	v
SUMMARY.....	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ.....	vii
TABLolar VE ŞEKİLLER LİSTESİ.....	viii
GİRİŞ.....	1
GENEL BİLGİLER.....	4
2.1.1. İyi bir enfeksiyon görüntüleme ajanının özellikleri .....	4
2.1.2. Tc-99m'un Kimyasal özellikleri.....	4
2.2. Enfeksiyon görüntüleme Yöntemleri .....	5
2.3. Radyofarmasötik (RF) hazırlanması.....	11
2.4.Çalışmada kullanılan antibiyotik grupları hakkında genel bilgiler	12
GEREÇ VE YÖNTEM.....	17
3.1.1 Antibiyotik işaretleme ve geliştirme aşamaları.....	17
3.2.1. Hayvan modelinin hazırlanması.....	36
3.3. Görüntüleme parametreleri.....	37
3.4. Kantitatif değerlendirme.....	37
3.5. İstatistiksel değerlendirme.....	37
BULGULAR.....	38
TARTIŞMA.....	59
SONUÇ.....	65
KAYNAKLAR.....	66

## TEŞEKKÜR

Bilgisini ve tecrübelerini bizlerden esirgemeyen, bizlere verdiği değeri her zaman hissettiğim ve birlikte çalışmaktan onur duyduğum saygı değer hocam bilim insanı Prof. Dr. Taner ERSELCAN' a teşekkür ederim.

Bilgisini ve tecrübelerini bizlerle paylaşan, birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum değerli hocam Doç. Dr. Bülent TURGUT'a teşekkür ederim.

Uzun denebilecek bir zaman süresince birlikte çalıştığım ve çalışmaktan zevk aldığım sevgili mesai arkadaşlarım ve meslekdaşlarım; Uzm. Dr. Zekiye HASBEK, Uzm. Dr. Ayşegül ÖZDAL, Uzm. Dr. Perihan A.KELKİT, Uzm. Dr. Serdar Savaş GÜL, Dr. Pelin DUMAN, Dr. Fadime YUMUK, Dr. M. Fatih BÖRKSÜZ ve Dr. Ümit ÖZTEKİN'e teşekkür ederim.

Birlikte çalıştığım ve kendilerini tanımaktan dolayı mutlu olduğum sevgili mesai arkadaşlarım; tek hemşiremiz Münevver KARAPINAR'a teknisyen arkadaşlarım Hülya DOĞAN, Emre DUMAN, Nafiz ERDAL, Alev VARLI, Kubilay ŞENTÜRK, Cemil ÖZDEMİR, Muzaffer KORKMAZ, Celal GÖN, Ömer EMRAHOĞLU, Ayşe MOĞULKOÇ ve Müzeyyen KARADAĞ'a, sekreterlerimiz Mübeccel TOPÇU ve Şenay KOÇ'a teşekkür ederim.

Tezim süresince verdikleri değerli bilgi ve katkılarından dolayı Prof. Dr. M. Zahir BAKICI hocam başta olmak üzere mikrobiyoloji bölümünün değerli çalışanlarına teşekkür ederim.

Yine tezim süresince bilgi ve katkılarından dolayı değerli hocam Doc. Dr. Yusuf TUTAR başta olmak üzere CUTFAM'ın değerli çalışanları ve kimyager Gülderen KARAKUŞ' a teşekkür ederim.

Ve tezim süresince yardımlarını esirgemeyen deney hayvanları laboratuvarı sorumlusu Uzm. Vet. Hek. Yücel YALMAN'a ve Seffettin ŞENER'e Teşekkür ederim.

Eğitim hayatım süresince bana verdikleri maddi ve manevi desteklerinden dolayı annem, babam ve kardeşime teşekkür ederim.

İhtisas eğitimim süresince desteğini benden esirgemeyen biricik eşim Müjde ÖZER'e teşekkür ederim.

## ÖZET

Enfeksiyon hastalıklarının ayırıcı tanısının yapılabilmesi önemli klinik sorunlardan birisidir. Bu ayırımın yapılabilmesi için nükleer tıp yöntemlerine sıklıkla ihtiyaç duyulmaktadır. Bu çalışmada, Wistar ratlarda oluşturulan enfeksiyon ve osteoblastik faaliyet artışı modelinde, Tc-99m ile beş farklı antibiyotik işaretlemesinin yanı sıra moksifloksasin, sefuroksim sodyum ve klindamisin enfeksiyon tanısında kullanılabilirliği ve kısıtlılıkları araştırıldı. Elde edilen sonuçlar Tc-99m perteknetat ile yapılan kontrol grubu çalışmaları ile karşılaştırıldı. Kantitatif veriler 30 adet ratta, 10., 60. 120.dk ve 24.saat görüntülerinden elde edildi. Tarafımızdan işaretleme yöntemi geliştirilen amikasin ve streptomisin için ise bağlanma yüzdeleri ve stabiliteleleri incelendi.

Tc-99m ile işaretli antibiyotikler enfeksiyon ve osteoblastik faaliyet artışı alanlarında normal dokudan daha fazla tutulum gösterdiler. Tc-99m-Moksifloksasinin, Tc-99m-Sefuroksimin ve Tc-99m-Klindamisinin enfekte/normal doku oranının tüm zamanlardaki ortalaması sırasıyla; 2.04; 1.71; 1.89 olarak bulundu. Ancak bu bulgular kontrol grupları ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı görüldü. Kırık/normal kemik oranlarının tüm zamanlardaki ortalaması ise sırasıyla 2.0; 1.96; 1.58 olarak bulundu. Bu oranlar enfekte/normal doku oranları ile karşılaştırıldığında aralarında yine istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı.

Sonuç olarak; bu çalışmada kullanılan Tc-99m ile işaretli antibiyotiklerin hayvan modelinde enfeksiyon alanında ve osteoblastik faaliyet artışı alanında benzer şekilde tutulduğu ve enfeksiyon/osteoblastik faaliyet artışı ayırımı için sağlıklı olarak kullanılmayacaklarını düşünüyoruz. İşaretleme antibiyotikler ile başarılı bir enfeksiyon görüntüleme yönteminin geliştirilmesi konusunda farklı enfeksiyon ajanları, farklı enfeksiyon ajanı miktarları ve enfeksiyonun süresini de içine alan çoklu değişken ile yapılacak ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

**Anahtar Kelimeler:** Enfeksiyon görüntüleme, Tc-99m ile işaretli antibiyotik, antibiyotik görüntüleme, klindamisin görüntüleme, moksifloksasin görüntüleme, sefuroksim görüntüleme.

## SUMMARY

The differential diagnosis of infectious diseases is one of the major clinical problem. Nuclear imaging methods are often needed in the context. In the present study, the imaging quality and limitations of moxifloxacin, cefuroxime sodium and clindamycin labelled with Tc-99m in infection and osteoblastic activity increase model which formed on Wistar rats were investigated, among five antibiotics The results were compared with the Tc-99m-pertechnetate control group. The quantitative data have been obtained from 10th, 60th, 120th minutes and 24th hours images of 30 rats. Only labeling quality was evaluated for amikacin and streptomycin, for which labelling methodes were developed in our clinic.

Uptake of labeled antibiotics were higher in the infected and fractured area than normal tissue. All-time averages of Tc-99m-moxifloxacin's, Tc-99m-cefuroxime's and Tc-99m-clindamycin's infected/normal tissue ratios were found as 2.04; 1.71; 1.89, respectively. However, no statistically differences were observed when compared with the control group. All-time averages of fracture/normal bone ratios were found as 2; 1.96; 1.58, respectively. When the findings were compared with infected/normal tissue ratios, no statistically significant differences were observed.

In conclusion, we think that Tc-99m labelled antibiotics that have been used in the present study, have similar uptake pattern and do not permit to differentiate infection foci from an increased osteoblastic activity in the animal model. Further studies are needed considering multiple parameters, such as diffrent infection agents and in different amounts together with different infection durations for developing a successful imaging methods.

**Keywords:** Infection imaging, Tc-99m labeled antibiotic, antibiotic imaging, clindamycin imaging, moxifloxacin imaging, cephiroxime imaging.

## SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

BT	: Bilgisayarlı Tomografi
Tc-99m-MDP	: Tc-99m-Metilen Difosfonat
Tc-99m-HMPAO	: Tc-99m-Hexametilpropilen Amin Oksim
OM	: Osteomyelit
KeV	: Kiloelektronvolt
mCi	: Milikuri
PNL	: Poliformonüveli lökosit
g	: Yer çekimi sabiti
SF	: Serum Fizyolojik
DNA	: Deoksiribonükleikasit
ACD	: Asit Sitrat Dekstroz
GİS	: Gastrointestinal Sistem
HIG	: Poliklonal Human İmmunoglobulin
RF	: Radyofarmasötik
AG	: Aminoglikozidler
BOS	: Beyin Omurilik Sıvısı
İ.P	: İntraperitoneal
İTC	: İnce Tabaka Kromotografisi
S.C	: Subkutan
CFU	: Koloni oluşturan birim
RES	: Retiküloendotelial sistem
SD	: Standart Deviasyon

## TABLolar VE ŞEKİLLER LİSTESİ

<b>Şekil 1.</b> Sefuroksim sodyum için kalay klorürün farklı dozlarındaki bağlanma yüzdeleri.....	18
<b>Şekil 2.</b> Sefuroksim sodyum için farklı inkübasyon sürelerindeki bağlanma yüzdeleri.....	19
<b>Şekil 3.</b> Streptomisin sülfat için kalay klorürün farklı dozlarındaki bağlanma yüzdeleri.....	20
<b>Şekil 4.</b> Streptomisin sülfat için farklı inkübasyon sürelerindeki bağlanma yüzdeleri.....	20
<b>Şekil 5.</b> Amikasin sülfat için kalay klorürün farklı dozlarındaki bağlanma yüzdeleri.....	21
<b>Şekil 6.</b> Amikasin sülfat için farklı inkübasyon sürelerindeki bağlanma yüzdeleri.....	22
<b>Şekil 7.</b> Klindamisin fosfat için kalay klorürün farklı dozlarındaki bağlanma yüzdeleri.....	23
<b>Şekil 8.</b> Klindamisin fosfat için farklı inkübasyon sürelerindeki bağlanma yüzdeleri.....	23
<b>Şekil 9.</b> İTC kağıdında serbest Tc-99 un ileri hareketi.....	24
<b>Şekil 10.</b> UV ışığı altında moksifloksasin ve sefuroksimin İTC kağıdındaki görüntüsü .....	25
<b>Şekil 11.</b> UV ışığı altında klindamsin ve amikasinin İTC kağıdındaki görüntüsü .....	26
<b>Şekil 12.</b> UV ışığı altında streptomisin İTC kağıdındaki görüntüsü .....	27
<b>Şekil 13.</b> Tc-99m-Amikasin (solda) ve Tc-99m-Klindamisinin (sağda) ITC şeridinde gamma kamerada görüntülenmesi.....	28
<b>Şekil 14.</b> Tc-99m-Streptomisin (solda) ve Tc-99m-Sefuroksimin (sağda) ITC şeridinde gamma kamerada görüntülenmesi.....	28
<b>Şekil 15.</b> Tc-99m-Moksifloksasinin ITC şeridinde gamma kamerada görüntülenmesi.....	28
<b>Tablo 1.</b> Tc-99m-Moksifloksasinin zamana göre bağlanma yüzdeleri.....	29
<b>Şekil 16.</b> Tc-99m-Moksifloksasinin stabilite grafiği.....	29
<b>Tablo 2.</b> Tc-99m-Sefuroksimin zamana göre bağlanma yüzdeleri.....	30
<b>Şekil 17.</b> Tc-99m-Sefuroksimin stabilite grafiği.....	30
<b>Tablo 3.</b> Tc-99m-Streptomisinin zamana göre bağlanma yüzdeleri.....	31
<b>Şekil 18.</b> Tc-99m-Streptomisinin stabilite grafiği.....	31
<b>Tablo 4.</b> Tc-99m-Amikasinin zamana göre bağlanma yüzdeleri.....	32
<b>Şekil 19.</b> Tc-99m-Amikasinin stabilite grafiği.....	32
<b>Tablo 5.</b> Tc-99m-Klindamisinin zamana göre bağlanma yüzdeleri.....	33
<b>Şekil 20.</b> Tc-99m-Klindamisinin stabilite grafiği.....	33
<b>Şekil 21.</b> Bağlı antibiyotiklerin ve bağlı olmayan antibiyotiklerin üreme inhibisyon zonları.35	
<b>Tablo 6.</b> MDP Grubunun Kırık/Normal Kemik ve Enfekte/Sağlam Doku Oranları.....	38
<b>Tablo 7.</b> MDP Grubunun Kırık/Normal Kemik Oranlarının zamana göre ortalamaları.....	38
<b>Şekil 22.</b> MDP Grubunda zamana göre Kırık/Sağlam Kemik tutulum oranları.....	39
<b>Tablo 8.</b> MDP Grubunun Enfekte/Sağlam Doku Sayım Oranlarının zamana göre ortalamaları.....	39

<b>Şekil 23.</b> MDP Grubunda zamana göre Enfekte/Sağlam Doku tutulum oranları.....	39
<b>Şekil 24.</b> Kemik sintigrafisi grubu. 24.saatte alınan 10 dk.'lık anterior planar görüntü.....	40
<b>Tablo 9.</b> Tc-99m Grubunun Kırık/Normal Kemik ve Enfekte/Sağlam Doku Oranları.....	41
<b>Tablo 10.</b> Tc-99m Grubu Kırık/Normal Kemik Oranları.....	41
<b>Şekil 25.</b> Tc-99m grubunda Kırık/Normal Kemik Oranları.....	42
<b>Tablo 11.</b> Tc-99m grubunun Enfekte Doku/Sağlam doku tutulum oranları.....	42
<b>Şekil 26.</b> Tc-99m grubunun zamana göre Enfekte Doku/Sağlam doku tutulum oranları.....	42
<b>Şekil 27.</b> Tc-99m Grubu 10. dakikada alınan10.dk'lık anterior planar görüntü. ....	43
<b>Tablo 12.</b> Tc-99m-Moksifloksasin Grubunun Kırık/Normal Kemik ve Enfekte/Sağlam Doku Oranları.....	44
<b>Tablo 13.</b> Tc-99m-Moksifloksasin Grubu Kırık/Normal Kemik Oranları.....	44
<b>Şekil 28.</b> Tc-99m-Moksifloksasin Grubu Kırık/Normal Kemik Oranları.....	44
<b>Tablo 14.</b> Tc-99m-Moksifloksasin Grubu Enfekte Doku/Normal Doku Oranları.....	45
<b>Şekil 29.</b> Tc-99m-Moksifloksasin grubunun zamana göre enfekte doku/normal doku tutulum oranları.....	45
<b>Tablo 15.</b> Tc-99m-Moksifloksasin ve Tc-99m gruplarının Enfekte/Sağlam Doku ve Kırık/Normal Kemik oranlarının karşılaştırması.....	46
<b>Şekil 30.</b> Moksifloksasin ve Tc-99m gruplarının kırık/normal kemik oranlarının karşılaştırması.....	46
<b>Şekil 31.</b> Moksifloksasin ve Tc-99m gruplarının enfekte/sağlam doku oranlarının karşılaştırması.....	47
<b>Tablo 16.</b> Tc-99m-Moksifloksasinin kırık/normal doku oranı ve enfekte/normal doku oranları.....	47
<b>Şekil 32.</b> Tc-99m-Moksifloksasinin osteoblastik faaliyet artışı oranı ve enfekte/normal doku oranlarının grafiği.....	48
<b>Tablo 17.</b> Tc-99m-Sefuroksim Grubunun Kırık/Normal Kemik ve Enfekte/Sağlam Doku Oranları.....	48
<b>Tablo18.</b> Tc-99m-Sefuroksim Grubu Kırık/Normal Kemik Oranları.....	48
<b>Şekil 33.</b> Tc-99m-Sefuroksim Grubu Kırık/Normal Kemik Oranı.....	49
<b>Tablo 19.</b> Tc-99m-Sefuroksim Grubunda Enfekte/Normal Doku Oranı.....	49
<b>Şekil 34.</b> Tc-99m Sefuroksim grubunun zamana göre enfekte/normal doku tutulum oranları.....	49
<b>Tablo 20.</b> Tc-99m-Sefuroksim ve Tc-99m gruplarının Enfekte/Sağlam Doku ve Kırık/Normal Kemik oranlarının karşılaştırması.....	50
<b>Şekil 35.</b> Sefuroksim ve Tc-99m gruplarının kırık/normal kemik oranlarının karşılaştırması.....	51

<b>Şekil 36.</b> Sefuroksim ve Tc-99m gruplarının enfekte/sağlam doku oranlarının karşılaştırması.....	51
<b>Tablo 21.</b> Tc-99m-Sefuroksimin kırık/normal doku oranı ve enfekte/normal doku oranları.....	52
<b>Şekil 37.</b> Tc-99m-Sefuroksimin osteoblastik faaliyet artışı oranı ve enfekte/normal doku oranlarının grafiği.....	52
<b>Tablo 22.</b> Tc-99m-Klindamisin Grubunun Kırık/Normal Kemik ve Enfekte/Sağlam Doku Oranları.....	53
<b>Tablo 23.</b> Tc-99m-Klindamisin Grubu Kırık/Normal Kemik Oranları.....	53
<b>Şekil 38.</b> Tc-99m-Klindamisin Grubu Kırık/Normal Kemik Oranı.....	53
<b>Tablo 24.</b> Tc-99m- Klindamisin grubunun zamana göre enfekte/normal doku tutulum oranları.....	54
<b>Şekil 39.</b> Tc-99m Klindamisin grubunun zamana göre enfekte/normal doku tutulum oranları.....	54
<b>Tablo 25.</b> Tc-99m-Klindamisin ve Tc-99m gruplarının Enfekte/Sağlam Doku ve Kırık/Normal Kemik oranlarının karşılaştırması.....	55
<b>Şekil 40.</b> Klindamisin ve Tc-99m gruplarının kırık/normal kemik oranlarının karşılaştırması.....	55
<b>Şekil 41.</b> Klindamisin ve Tc-99m gruplarının enfekte/sağlam doku oranlarının karşılaştırması.....	56
<b>Tablo 26.</b> Tc-99m-Klindamisinin kırık/normal doku ve enfekte/normal doku oranları.....	56
<b>Şekil 42.</b> Tc-99m-Sefuroksimin osteoblastik faaliyet artışı oranı ve enfekte/normal doku oranlarının grafiği.....	57
<b>Şekil 43.</b> Moksifloksasin, Sefuroksim ve Klindamisin gruplarının kırık/normal kemik oranlarının karşılaştırması.....	57
<b>Şekil 44.</b> Moksifloksasin, Sefuroksim ve Klindamisin gruplarının Enfekte/Normal Doku oranlarının karşılaştırması.....	58
<b>Tablo 27.</b> Moksifloksasin, Sefuroksim ve Klindamisin gruplarının istatistiksel olarak karşılaştırılması.....	58
<b>Tablo 28.</b> Moksifloksasin, Sefuroksim ve Klindamisin gruplarındaki zamana göre ortalama tutulum oranları.....	58

## GİRİŞ

Mikroorganizmaların çoğunun tanınmalarına ve tanı ve tedavi yöntemlerinin gelişmiş olmasına rağmen, enfeksiyon hastalıkları halen önemli bir mortalite ve morbilite nedenidir. Enfeksiyon odağının sintigrafik olarak görüntülenmesi için klinik kullanımda hazırlaması kolay, serumla veya kanla uğraşmayı gerektirmeyen ve nispeten ucuz yöntemlere ihtiyaç duyulmaktadır. Yine bu yöntem non-spesifik enflamasyondan ziyade enfeksiyona spesifik olmalıdır. Bu amaçla üzerinde en çok çalışılan yöntemlerden birisi Tc-99m ile işaretli antibiyotiklerdir. Bunun sebebi Tc-99m ile işaretli antibiyotiklerin hazırlamasının ve teminin nispeten kolay olması ve maliyetlerinin düşük olmasıdır.

Hastanın durumuna göre enfeksiyon görüntüleme yöntemlerinin önceliği değişir. Örneğin post operatif bir hastada radyonüklid görüntüleme, bilgisayarlı tomografiyi (BT) tamamlayıcı ve enfeksiyondan kaynaklanan postoperatif değişiklikleri ayırt etmede yardımcı olarak kullanılabilir. Diğer taraftan, radyonüklid çalışmalar eklem replasmanı yapılmış ağrısı olan hastalarda protez başarısızlığının sebeplerinden birisi olan enfeksiyonu ayırt etmede primer tanısal görüntüleme yöntemidir (1). Tedavilerinin farklılığından dolayı kalça protezleri başta olmak üzere, protezlerde enfeksiyonun ve aseptik gevşemenin birbirinden ayırımı çok önemlidir. Enfeksiyon ve aseptik gevşeme ayırıcı tanısında kullanılan nükleer tıp teknikleri: Tc-99m-Metilen difosfonat (MDP) ile kemik sintigrafisi, Ga-67 görüntüleme, In-111-Oksin veya Tc-99m-Hexametilpropilen amin oksim (HMPAO) ile lökosit işaretlemidir. Bununla birlikte aseptik gevşeme/enfeksiyon ayırıcı tanısı halen net bir şekilde yapılamamaktadır (2).

Kemik sintigrafisi osteomyelit tanısı için son derece duyarlıdır ve radyolojik olarak bulgular saptanmadan 1-2 hafta önce pozitif sonuç verir (3). Maalesef özgünlüğü düşüktür ve kemiği ilgilendiren herhangi bir olaydan etkilenebilir. Üç fazlı kemik sintigrafisinin osteomyelit (OM) için travma olmayan kemikte duyarlılığı %90-100 ve özgünlüğü % 70-95'dir. Eşlik eden bir kemik patolojisi olduğunda (travma, ortopedik girişim, protez vs.) özgünlük

yaklaşık %35'e düşer (3). Bu nedenle Tc-99m-HMPAO (veya In-111-Oksin) ile lökosit işaretleme veya Ga-67 gibi ikinci bir görüntüleme yöntemi ile birlikte kullanıma ihtiyaç duyulur. Ancak her iki yöntemde de radyofarmasötüğün osteoblastik faaliyet artışı alanlarında da tutulum gösterebildiği bilinmektedir. Ayrıca, daha önemlisi bu yöntemler enfeksiyona spesifik olmayıp steril enflamasyon alanlarında da tutulum göstermektedirler (1).

Bu çalışmada, enfeksiyon/osteoblastik faaliyet artışı ayırımının sintigrafik olarak yapılabilmesi veya herhangi bir organın enfeksiyonunda enfeksiyon alanının görüntülenmesi için işaretli antibiyotiklerin kullanılabilirliğinin hayvan modeli ile araştırılması esas alındı. Bu amaçla Wistar ratlar'da Tc-99m ile işaretli moksifloksasin, sefuroksim sodyum ve klindamisin fosfat görüntüleme ile enfeksiyon odağının görüntülenip görüntülenemeyeceği ve enfeksiyon/osteoblastik faaliyet artışı ayırımının yapılıp yapılamayacağını araştırmayı planladık.

Bu çalışmadaki aşamalar aşağıda özetlendi;

1-Wistar ratlarda osteoblastik faaliyet artışı alanında ayrı ayrı olarak Tc-99m ile işaretli moksifloksasin, sefuroksim sodyum ve klindamisin tutulumunun olup olmadığını araştırmak. Tutulum varsa bunun anlamlı olup olmadığını Tc-99m Perteknetat ile çekilen kontrol sintigrafilerinde araştırmak.

2-Tc-99m ile işaretli moksifloksasin, sefuroksim sodyum ve klindamisin S.Aureus ile oluşturulan enfeksiyon alanında tutulup tutulmadığını araştırmak. Tutulum varsa bunun anlamlı olup olmadığını Tc-99m Perteknetat ile çekilen kontrol sintigrafileri ile karşılaştırmak.

3-Antibiyotik gruplarında kırık bölgesindeki ve enfeksiyon bölgesindeki tutulumların arasında fark olup olmadığını araştırmak.

4- Tc-99m ile bağlanan antibiyotiklerin farklı inkübasyon süreleri ve kalay klorürün farklı miktarlarındaki bağlanma yüzdelerini hesaplayıp en yüksek bağlanma oranını bulmak.

5- Optimum şartlarda en yüksek bağlanma yüzdesi bulunan konsantrasyonlarda zamana göre ayrışma yüzdeleri hesaplamak. Bunun için Tc-99m ile bağlı antibiyotiklerin insan plazması ve serum fizyolojik ortamındaki ayrışmaları karşılaştırıldı. Plazmalı ortam in vivo ayrışmayı, serum fizyolojik ortam ise in vitro ayrışmayı temsil etti.

6- Tc-99m ile bağlı antibiyotikğin anti-bakteriyel özelliğini kaybedip kaybetmediğini S.Aures ekilmiş besi yerinde serbest antibiyotik ve bağlı antibiyotik diski kullanarak araştırmak.

## GENEL BİLGİLER

Enfeksiyon odağının görüntülenmesinde kullanılan ajanların klinik pratikte kullanılabilmesi ve duyarlılık ve özgüllüklerinin yüksek olması için bir takım özelliklere sahip olmaları arzu edilir.

### 2.1.1. İyi bir enfeksiyon görüntüleme ajanının özellikleri:

- Tc-99m ile işaretlenebilmeli,
- Enfeksiyon bölgesinde hızlıca akümüle olmalı,
- Enfeksiyon olmayan alanlarda küçük miktarda birikmeli,
- Enfeksiyon olmayan dokudan klirensi hızlı olmalı,
- İnflamasyonda değil, enfeksiyonda tutulmalı,
- Enjeksiyon sonrası 2. saatte enfeksiyonu tespit edebilmeli,
- Hastada farmakolojik etki yapmamalı,
- İmmunolojik reaksiyon oluşturmamalı, benzer hastalarda güvenli bir şekilde kullanılabilmeli,
- Hasta lökosit fonksiyonlarından bağımsız olmalı,
- Viral, fungal ve bakteriyel tüm lokalize enfeksiyonları belirleyebilmelidir (4).

### 2.1.2. Tc-99m'un Kimyasal özellikleri:

Tc atom numarası 43 olan VIIB grubu metaldir. Tc-99m, Mo-99'un beta bozunumu ile elde edilen yapay bir elementtir. Mo-99/Tc-99m jeneratöründen perteknetat formunda elde edilir. Yarı ömrü 6.02 saattir. 140 kiloelektronvolt (KeV) gamma ışını saçarak isomerik geçiş ile Tc-99'a bozunur. Tc-99 beta saçılımı ile ve  $2.1 \times 10^5$  yıl yarı ömürle Ru-99'a bozunur. (5).

Tc-99m'in -1 ile +7 arasında sekiz oksidasyon durumu vardır. Tc +7 ve +4 değerliği en stabil hali olup oksidi, sülfidi, halidi ve perteknetat formu bulunur. Düşük oksidasyon durumları (-1, +1, +2 ve +3 değerlerinde) daha az stabildir. +7 değerli Tc-99m normalde diğer bileşiklerle direk olarak birleşmez. Bunu için daha

alt oksidasyon düzeylerine indirgenmelidir. Çeşitli indirgen ajanlar bu amaçla kullanılmaktadır. (Kalay klorür, kalay sitrat, kalay tartarat, konsantre HCl, sodyum barohidrit, ditionit, demir sülfat vb.). Perteknetat anyonunun ( $TcO_4^-$ ) kimyasal reaktivitesi herhangi bir liganda direkt olarak bağlanmamışsa ihmal edilebilir düzeydedir.

Kolloid formu hariç, Tc-99m ile hazırlanan radyofarmasötikler düşük oksidasyon durumundaki Tc-99m perteknetatın indirgenmesi ile hazırlanan metal kompleksleridir (5).

## **2.2. Enfeksiyon Görüntüleme Yöntemleri:**

Bu bölümde enfeksiyon görüntülemeye kullanılan çeşitli sintigrafik görüntüleme yöntemlerine değinilmiştir.

### **2.2.1. Galyum-67 Görüntüleme:**

Nispeten eski bir yöntemdir. Ga-67'nin yarı ömrü 79.2 saat olup elektron yakalama ile stabil Zn-67'ye bozunur ve 94, 184 ve 296 KeV'luk gamma emisyonları görüntüleme amacıyla kullanılır (6). Enfeksiyon görüntüleme için Ga-67'nin klasik doz uygulaması 5-6 milicuri (mCi) dir. Görüntüleme 6., 24. veya 48. saatte yapılır. Genel olarak Ga-67 aktivitesi akut inflamasyona paralel olarak artar ve hastalık durumu ortadan kalktığında akümülyasyon da olmaz. Ga-67'nin enfeksiyon/inflamasyon bölgesinde tutulumundan sorumlu tutulan bazı mekanizmalar vardır.

Bunlar:

- Artmış kapiller geçirgenlik, artan kan akımına bağlı olarak ekstravasküler alana daha fazla sıvı geçişi,
- Poliformonüveli lökosit (PNL) varlığı: Vücuttaki galyumun %10'nu intrastoplazmik granüllerdeki laktoferrine bağlanır ve lezyon bölgesine taşınır.

- B-Lenfosit: Hücre yüzeylerinde laktoferrine spesifik reseptörleri vardır ve bu nedenle de galyuma yüksek afinite gösterirler.
- Makrofajlar: Protein-demir komplekslerini ve hücre debridlerini temizlerler, bu sayede de galyum akümüle ederler.
- Direkt olarak bakteriyel akümülyasyon: Bakteri ve mantarlar demir transport mekanizmasına sahiptir. Hücre yüzeyindeki sideroforlar (düşük molekül ağırlıklı protein) galyum bağlar ve galyumu siderefor kompleksi olarak hücre içine alır. Buna bağlı olarak nötropenik hastalarda bile apse formasyonunda galyum akümülyasyonu oluşur.
- Kemikte akümülyasyonu osteoblastik aktivite artışıyla artar (7).

Klinik uygulamada kullanımını kısıtlayan fizyolojik barsak aktivitesi, malign dokularda ve yeni oluşan kemik alanlarında tutuluyor olması gibi eksiklikleri vardır. Ayrıca radyofarmasötiğın (RF)'in uzun fiziksel yarı ömrü ve çok yüksek enerjili gamma ışınları nedeniyle elverişsiz görüntüleme özellikleri vardır ve yüksek radyasyon dozuna neden olur. Ayrıca, optimal görüntüleme için enjeksiyondan sonra 72 saat kadar geç görüntüler alınması gerekir. Bu olumsuz özelliklerinden dolayı ve işaretli lökosit gibi yeni RF'lerin geliştirilmesi nedeniyle enfeksiyon görüntüleme de çok sık kullanılmamaktadır (8).

### 2.2.2. Indium-111 Lökosit Sintigrafisi:

In-111'in fiziksel yarı ömrü 67.3 saattir. Elektron yakalama ile stabil Cd-111'e bozunarak 173 ve 247 KeV gamma emisyonu yapar (9). In-111 oksin, yüksek lipofilik özellik gösterir ve lökosit membranından kolayca difüzyona uğrar. Bir kez hücre içine girdikten sonra In-111 ve oksin (8-hydroxyquinoline) birbirinden ayrılır. Oksin hücre dışına difüze olur ve In-111 sitoplazmada proteinlere bağlı olarak hücre içinde kalır. Lökositten zengin fraksiyon çöktürme ve santrifüj işlemiyle diğer kan elemanlarından ayrılır. Lökositten zengin son çöküntü serum fizyolojik (SF) ile süspansiyon edilerek işaretleme için hazırlanır. In-111 oxin ile işaretleme yapılırken plazma süspansiyonu kullanılmaz çünkü radyofarmasötiğın %90'nı plazma içindeki transferrine hızla ve irreversibl olarak

bağlanır. Plazma ortamından ayrılmış lökositlerin fonksiyonel olup olmayacağına dair yıllardır devam eden bir tartışma vardır, ancak klinik sonuçlar fonksiyonların korunduğunu düşündürmektedir. Süspansiyonda bulunan bütün kan elemanları membran yüzeyleri ile orantılı olarak işaretlenirler. Karma bir hücre grubu işaretlenmesine rağmen bunların çoğunluğu nötrofildir. Böylece işaretlenmiş hücreler de nötrofil uyarısı oluşturan inflamasyon odaklarını görüntülemek için uygun hale gelir (10). Görüntüleme klasik olarak 18-24 saat sonra yapılır. Akciğerlerde geçici olarak 4 saat civarında artmış bir aktivite olmasına rağmen, 24 saatte normal dağılım oluşur. Verilen aktivitenin %10-20'si karaciğerde, %20-40'ı dalakta ve yüksek bir yoğunluk gösterecek şekilde %30-60'ı kemik iliğinde tutulmuş olur. Nadiren kan havuzu aktivitesi kalabilir. Bu durum hücre ayırma sırasında süspansiyonun içinde çok sayıda eritrosit kaldığının göstergesidir. In-111 Lökosit sintigrafisi OM tanısında yüksek duyarlılık ve özgünlüğe sahiptir. Akut OM tanısında In-111 lökosit sintigrafisinin duyarlılık ve özgünlüğü kombine MDP/Galyum-67 sintigrafisinden daha yüksektir. (Duyarlılık %80 ile %100 arasında bildirilmiştir) (3). Genel olarak akut enfeksiyonlarda duyarlılık yaklaşık %90 iken bu değer kronik enfeksiyonlar için %85'dir ve Ga-67 görüntülemeye göre daha yüksektir (%65).

### 2.2.3. Tc-99m-Hexametilpropilen Amin Oksim (HMPAO) işaretli Lökosit Sintigrafisi:

Klinik endikasyonları ve kullanımı In-111 lökosit sintigrafisi gibidir. Tc-99m-HMPAO lipofiliktir ve kolayca hücre membranlarını geçebilir (11). Bir kez hücre içine girdiğinde hidrofilik özellik kazanır ve hücre içinde kalır. Hücre içinde organellere, özellikle nükleus ve mitokondriye bağlanır. Granülositlerdeki bağlanma monositlerden daha stabildir ve bu hücre grubunu 5 kat daha hızlı işaretler. Bazı yazarlar hücre yüzeyine bağlanarak kompleks oluşturan radyofarmasötik de bulunduğunu ve bu komponentin erken dönemde ayrılarak barsak aktivitesine neden olduğunu bildirmişlerdir. Tc-99m-HMPAO işaretli lökosit sintigrafisi hızlı cevap alınması gereken kas iskelet sistemi enfeksiyonlarında kullanılır. Kronik enfeksiyon veya sebebi bilinmeyen ateş gibi

ajanın akümüle olması için uzun zaman gerektiren görüntülemelerde In-111 ile işaretleme tercih edilmelidir. Dozimetrisinin daha uygun olması nedeniyle çocuklarda Tc-99m-HMPAO işaretlenmiş lökosit tercih edilir. Tc-99m-HMPAO işaretli lökosit sintigrafisinin akut osteomiyelitteki duyarlılığı kronik osteomiyelitten daha fazladır. (Duyarlılığı %97.7 - özgülüğü %96.8) (12).

İşaretli hücrelerin maruz kaldığı doz en az 5 Gy dir ve kromozom hasarına neden olur (11). Tc-99m -HMPAO işaretlenmiş karma lökosit grubunda ağır bir şekilde hasar görmüş lenfositler saptanır (11). Deoksiribonükleik asit (DNA) hasarının sonucu olarak, dolaşımdaki lenfositler apoptoz veya fagositoz ile uzaklaştırılırlar (11). Bu hücrelerin lenfoid malignite gibi deterministik etkilere yol açmayacağı düşünülmektedir (11).

#### 2.2.3.1. Lökosit işaretleme tekniği:

İşlemler steril olarak yapılır. 9 ml Asit Sitrat Dekstroz (ACD) solüsyonu içeren 20 numara enjektöre 51 ml taze hasta kanı çekilir. Daha sonra 4.5 ml %10'luk Hespan (Hydroxyethyl starch) eklendikten sonra 30-45 dk. 1g'de bekletilir. Bu süre sonunda elde edilen lökosit ve trombosit'ten zengin plasma 5 dk 150 g'de santrifüje edildikten sonra dipte mikst lökositler elde edilir. İşaretlenecek olan kısım burasıdır. Üstte kalan trombosit'ten zengin kısım atılır. Tabanda kalan lökositleri almak için serum fizyolojik solüsyonu kullanılır. Tc-99m ile HMPAO işaretleme için taze sağılmış Tc-99m gereklidir. Alınan lökositler 20-25 mCi Tc-99m ile karıştırılır ve oda ısısında 10 dk. bekletilir. Sonra 5 dk 150 g'de tekrar santrifüj edilir. Yüzeyde kalan bağlı olmayan kısım atılır. Altta kalan kısım hastaya verilir. Hastaya verme işlemi sırasında 22 numara iğne kullanılır ve yavaş olarak uygulanır (13).

#### 2.2.4. Enfeksiyonda Poliklonal Human İmmunoglobulin (HIG) görüntüleme:

Antikor, ağır ve hafif zincirler içeren 4 polipeptit zincirinden meydana gelmiştir. Her zincir sabit ve değişken kısımlardan oluşur. Değişken bölgeler

antijenik bağlanma bölgeleridir. Ağır ve hafif zincirdeki değişken bölgelerin her biri üç farklı çok değişken bulundurur ve bu da molekülün yegane antijen bağlanma bölgesini oluşturur. Sabit bölgeler antikorun alt tipine göre belli aminoasit dizimlerine sahiptir. Bu diziler bir birine çok benzer yada aynıdır. Bu bölge 'constant' (sabit) bölgedir ve Fc fragmanı olarak adlandırılır. Soğukta kristalleşme özelliğinden dolayı Fc ("Fragment crystallizable": kristalize olabilen parça) ismi verilmiştir. Kompleman fiksasyonu veya antikor bağımlı sistoksik etkiden sorumludur. Antikor işaretleme ağır zincirdeki bir amino asit veya karbonhidrat grubuna radyofarmasötüğün bağlanması ile yapılır.

**Poliklonal IgG Antikorlar:** Poliklonal IgG antijen spesifik olmayan bir IgG yapısıdır. Radyofarmasötik olarak 1gr poliklonal IgG 1.5 mCi In-111 ile işaretlenir. Kritik organ karaciğer (1.42 rad/mCi) ve dalaktır (verilen dozun yaklaşık %1'i). Bu dozlar işareti lökositte daha düşüktür. Uygulanan dozun yaklaşık %15'i idrarla atılır (3). Fizyolojik uptake; karaciğer, dalak, kemik iliği, böbrek ve mesanede görülür. Bu nedenle de bu organlardaki küçük enfeksiyon odakları ayrılamaz. Ayrıca kan havuzu aktivitesi de görüldüğünden mikotik anevrizmalarda greft enfeksiyonu tanısı koymak zordur. Gastrointestinal Sistem (GİS) kanaması veya gastrointestinal protein kaçağı nedeniyle değişen miktarlarda barsak aktivitesi görülebilir, ancak bu miktar genellikle verilen dozun %1'inden az olduğundan çok sorun yaratmaz. Erken görüntülerde akciğer, burun, vajina ve erkek genital organlarında görülebilir, eğer enfeksiyon yoksa bu aktivite geç görüntülerde kaybolur. In-111-IgG kandan yaklaşık 12 saatlik bir yarı ömür ile temizlenir (14). İnfeksiyon ve inflamasyonda duyarlılığı %97, özgüllüğü ise %93'dür (15).

HIG görüntülemenin avantajı hazır kit halinde bulunması ve 6 saat içinde sonuç vermesidir. Ayrıca nötrofil işaretleme gerekmediğinden nötroopenik hastalarda da kullanılabilir. Tc-99m işaretli IgG kronik enfeksiyonlarda kullanılmamıştır. Bu durum muhtemelen kronik enfeksiyonlarda gereken uzun akümüasyon süresinin izotopun kısa yarı ömrü nedeniyle sağlanamamasından kaynaklanmaktadır.

Ajanın dezavatajı; hematoma, inflamatuvar barsak hastalığı, sinovitis ve yeni fraktür (<3 hafta) gibi steril inflamasyon bölgelerinde de toplanmasıdır. Aslında bu inflamasyon görüntüleyen bütün ajanlar için geçerlidir; bu tür ajanlar inflamasyon görüntüleme için önerilmektedir. Ayrıca cerrahi yaralarda, osteotomide, intramusküler enjeksiyon bölgesinde, renal transplant rejeksiyonunda, pankreatitte, miyokart infarktüsünde ve serebral infarkt bölgesinde, derin ven trombozunda ve pulmoner embolide de uptake'i gösterilmiştir.

Poliklonal IgG'nin enfeksiyon/inflamasyonda tutulum mekanizmaları için belirlenen mekanizmalar:

- Fc resptörlerine bağlanarak inflamatuvar reaksiyonlarda hücrelere bağlanması (makrofaj, PNL, lenfosit), fakat bu durum hala nötropenik hastalarda neden yüksek aktivite gösterebildiğini açıklamamaktadır.
- İnflamasyon bölgesinde artan damar geçirgenliğine bağlı olarak ekstraselüler sıvıda birikme.
- Bakterideki IgG veya Fc parçasına direkt bağlanma.

Duyarlılık ve özgünlüğü işaretli lökositlere benzer (yaklaşık %90 ve %95) (16). Antibiyotikler, anti-inflamatuvarlar, steroid kullanımı, diabetes mellitus, böbrek fonksiyonlarının azalması ve kronik enfeksiyon varlığının duyarlılığı azaltmadığı saptanmıştır. Difüz pulmoner aktivite sıklıkla pnomosistis karini'nin bir bulgusudur. HIV (Human Immunodeficiency Virus) pozitif hastalarda enfeksiyon için yapılan görüntülemelerde Kaposi sarkomu veya intratorasik lenfomalarda HIG akümüle etmediği görülmüştür (17).

## 2.3. Radyofarmasötik hazırlanması:

### 2.3.1. Tc-99m ile antibiyotik işaretlemede kalay klorürün yeri:

Tc-99m ile işaretli radyofarmasötikler kullanım öncesi basit ve kısa süren hazırlama aşamalarına ihtiyaç duyarlar. Kalay klorür, Tc-99m ile hazırlanan radyofarmasötiklerde yaygın olarak kullanılan bir indirgeyici ajandır. Kit hazırlamak için ideal bir indirgeyici ajanda olması gereken özellikler:

- İlımlı ph'da etkili indirgeme sağlamalı,
- Farklı oksidasyon hallerinde tek bileşenli kompleks oluşturmalı,
- Kompleks oluşumu sürecine engel olmamalı, kirlilik yaratmamalı,
- Oluşan son bileşikde yer almamalı,
- Kit depolama süresinde stabil olmalıdır.

Kalay klorür ile işaretleme ılımlı veya hafif asidik ph'da oda ısısında yapılabilir. Kendisi radyofarmasötiğin yapısına katılmaz (18).

## 2.4. Çalışmada kullanılan antibiyotik grupları hakkında genel bilgiler:

Bu çalışmada kullanılan antibiyotikler, farklı etki mekanizmalarına sahip olmaları ve bakteriyostatik veya bakterisidal özellikleri dikkat alınarak seçildi. Antibiyotik seçiminde aminoglikozidler, kinolonlar ve sefalosporinler gibi bakterisidal antibiyotiklerin yanı sıra klindamisin gibi bakteriyostatik bir antibiyotiğin de etkisi değerlendirildi.

### 2.4.1. Aminoglikozidler (AG):

Moleküllerin fazla polar olması nedeniyle bakteri hücrelerine pasif difüzyonla giremezler. Gram negatif bakterilerde dış duvarı porin kanalları içinden aşarak periplazmik aralığa girerler. Bu tür bakterilerde ve duyarlı gram pozitif bakterilerde enerjiye bağımlı bir membranel aktif transport sistemi ile hücre içine transfer edilirler. Bu olay enerji bağımlı bir olay olduğu için zorunlu anaerobik bakterilere giremezler ve dolayısı ile etkisizdirler. Esas etki yerleri bakteri ribozomlarının 30s alt birimidir. Buraya irrevesibl bağlanarak kodonda değişikliğe yol açar ve mRNA'nın uygun bağlanmasını önlerler. Böylece mRNA'nın taşıdığı mesajın yanlış okunmasına neden olarak protein sentezini inhibe ederler. Protein sentezini inhibe ederek bakteriyostatik etki gösteren diğer protein sentezi inhibitörü antibiyotiklerden farklı olarak hızlı ve güçlü bakterisid etki yaparlar. Streptomisin sadece 30s alt birime bağlanırken, diğerleri 50s alt birime de bağlanırlar.

Antibakteriyel spektrum: AG'ler esas itibariyle dar spektrumlu antibiyotiklerdir. Bunlara en duyarlı olan bakteri grubu gram negatif aerobik basillerdir. Bunlar arasında Enterobacteriaceae türleri (E.Coli, Klebsiella, Proteus, Enterobacter, Shigella, Salmonella ve Serratia türleri), Pseudomonas aurogenosa ve Burucella türleri, Yersinia tularensis, Y.pestis ve Haemophilus influenza bulunur. S.aureus ve S.epidermidis gibi gram pozitif koklar da AG'lere duyarlıdır.

#### 2.4.1.1. Amikasin:

AG'ler arasında yarı sentetik olarak ilk yapılandır. Doğal bir AG olan kanamisininden asillenme yoluyla elde edilir. Bu yapısı dolayısı ile doğal AG'leri inaktive eden bakteriyel enzimlere dayanıklıdır ve bundan dolayı en geniş spektrumlu AG'dir.

#### 2.4.1.2. Streptomisin:

İlk bulunana AG türevidir. *Streptomyces griseus*'dan elde edilir. Ototoksik etkisi belirgindir. Nefrotoksik etkisi diğer AG'lere göre daha düşüktür.

#### 2.4.2. Linkozamidler:

Bu grupta, linkomisin ve klindamisin bulunur. Makrolid antibiyotilerle birlikte sınıflandırılırlar. Bunun sebebi antibakteriyel spektrumlarının, etki mekanizmalarının, rezistans mekanizmalarının ve klinik kullanım alanlarının benzemesidir. Linkomisin, *Streptomyces lincolnensis*'ten elde edilen doğal bir antibiyotiktir. Klindamisin ise, linkomisin molekülünde bir hidroksil grubu yerine bir klor atomunun sokulması ile elde edilen yarı sentetik bir antibiyotiktir. Yapılarındaki bu ufak değişikliğe rağmen farmakokinetik ve farmakolojik özelliklerinde belirgin farklılığa neden olur. Klindamisin barsaktan daha kolay emilmesi, antibakteriyel etkinliğinin daha güçlü olması ve daha az toksik olması nedeni ile linkomisine üstünlük gösterir. Klindamisin, eritromisine oranla daha toksik bir antibiyotiktir.

Linkozamidler, bakterilerin hücre çeperini pasif difüzyonla geçerek sitoplazmada bulunan 50S ribozomal alt birimlere bağlanmak suretiyle protein sentezini inhibe ederek bakteriyostatik etkinlik gösterir. Dar spektrumludurlar. Esas olarak, gram pozitif bakteri türlerinin çoğuna ve gram negatif anaerob patojen bakterilerin bazı türlerine karşı etkilidirler. Klindamisin *Bacteroides*'lere karşı güçlü etkinlik gösterir ve en tercih edilen antibiyotiktir. *Strep. pneumonia*,

Strep. pyogens, Strep. viridans ve Staf. Aureus'a karşı etkilidir. Klindamisin, linkomisin ve eritromisin arasında çapraz rezistans durumu vardır.

#### 2.4.2.1. Klindamisin:

Plazma proteinlerine %90 oranında bağlanır. İltihap hücrelerine, dokulara ve vücut sıvılarına (balgam, akciğer, karaciğer, safra, safra kesesi, apendiks, yumuşak dokular, kemikler, eklemler ve prostat dahil) iyi nüfuz eder, fakat menenjit halinde bile beyin omurilik sıvısına (BOS) iyi giremez. PNL'ler, alveolar makroajlar ve apselerde birikir. Klindamsin vücutta aktif ve inaktif metabolitlerine önemli ölçüde metabolize edilir, %10'u böbreklerden değişmeden atılır. Kısmen safra içinde barsağa atılır ve enterohepatik dolanım girer. Eliminasyon yarı ömrü 3 saattir.

#### 2.4.3. Fluorokinolonlar:

6-fluoro-4-kinolokorboksilik asid türevidirler. Neredeyse hepsi 7 numaralı karbon atomuna bağlanmış bir piperazin halkası içerirler. Kimyaca suda çözünen fazla lipofilik bileşiklerdir. Geniş spektrumulu ve hızlı bakterisidal etkilidirler. Fluorokinolonlar, bakteri sitoplazması içerisine girerek DNA'yı süper sarmal haline getiren DNA-giraz enzimini ve DNA-topoizomeraz enzimini inhibe ederler. Böylece bakteri kromozomlarının birbirinden ayrılmasını DNA replikasyonunu ve DNA transkripsiyonunu bozarlar, ayrıca DNA'yı zedelerler. Bakterisidal etki gösterirler. Kinolonların etkisine maruz kalan bakteriler bölünemezler, anormal şekilde uzayıp ölürlür. Daha fazla gram negatifler olmak üzere gram pozitif bakterilere de etkilidirler. İnsan hücrelerine de girerler. Ancak insan hücrelerinde DNA giraz enzimi yoktur, ona benzeyen DNA topoizomeraz-2 enzimi vardır. Kinolonlar bu enzimi DNA-giraz enzimine göre 54-2460 kez daha az etkilerler. Bu nedenle öldürücü etkileri selektif olarak bakteriler üzerinedir.

#### 2.4.3.1. Moksifloksasin:

Fluorokinolon grubu, geniş spektrumlu ve bakterisidal etkili, antibakteriyel bir ajandır. Gram-pozitif ve gram-negatif organizmalar, anaeroblar, aside dirençli bakteriler ve Mycoplasma türleri, Chlamydia türleri ve Legionella türleri gibi atipik bakterilerin geniş bir bölümüne karşı in-vitro aktiviteye sahiptir. Moksifloksasin,  $\beta$ -laktam ve makrolidlere dirençli bakterilere karşı etkilidir. Enfeksiyon modelleri ile hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalarda yüksek in-vivo aktivite gösterdiği kanıtlanmıştır. Aşağıdaki mikroorganizmaların pek çok suşları üzerinde in-vitro ve klinik olarak etkilidir: Gram pozitif mikroorganizmalar: Staphylococcus aureus (metisiline duyarlı suşlar dahil), Streptococcus pneumoniae (penisilin ve makrolidlere dirençli suşlar dahil), Streptococcus pyogenes (grup A). Gram negatif mikroorganizmalar: Haemophilus influenzae ( $\beta$ -laktamaz negatif ve pozitif suşlar dahil), Haemophilus parainfluenza, Klebsiella pneumonia, Moraxella catarrhalis ( $\beta$ -laktamaz negatif ve pozitif suşlar dahil), Escherichia coli, Enterobacter cloacae. Atipik bakteriler: Chlamydia pneumoniae, Mycoplasma pneumoniae. Dağılım: Moksifloksasin vücutta hızlı bir dağılım göstermektedir. Doku konsantrasyonları plazma konsantrasyonlarının üstündedir. Serum proteinlerine bağlanma oranı % 50'dir. Moksifloksasin esas olarak serum albüminine bağlanmaktadır. Moksifloksasin'in dokulardan eliminasyon hızı plazmadan atılım hızıyla paralellik gösterir. Moksifloksasin ekstravasküler alanlara son derece hızlı bir dağılım göstermektedir. Tükürükte, plazmadakinden daha yüksek doruk konsantrasyonlara ulaşılabilir. Moksifloksasin akciğerde (epitel sıvısı, alveolar makrofajlar), sinüslerde (maksiller ve etmoid sinüs, nazal polip) ve enflamasyonlu lezyonlarda (blister sıvısı) yüksek konsantrasyonlara ulaşır; buralarda plazma konsantrasyonlarını aşan konsantrasyonlara ulaşılır. İnterstisyel vücut sıvılarında (tükürük, intramüsküler, subkutan) yüksek serbest ilaç konsantrasyonları görülür. Metabolizma ve atılım: Moksifloksasin Faz II biyotransformasyona uğrar ve değişmemiş ilaç yaklaşık (% 45'i) ve bir sulfo-bileşiği (M1) ve bir glukuronid (M2) formunda böbrek ve safra/feçes yollarıyla atılır. Plazma yarılanma ömrü 12 saattir.

#### 2.4.4. Sefalosporinler:

Kimyasal yapıları bakımından ve antibakteriyel etki mekanizmaları yönünden penisilinlere benzerler. Sefalosporinlerin ana çekirdeğini sefam türeviden olan 7-aminosefalosporanik asit oluşturur. Sefalosporinler kronolojik esasa dayanan ve antibakteriyel spektrumdaki gelişmeyi yansıtmaları yönünden pratik değeri olan bir sınıflandırma şekline göre üç kuşak halinde sınıflandırılırlar. 1. kuşaktan 3. kuşağa doğru, gram pozitif etkinlik azalırken gram negatif etkinlik artar. Penisilinler gibi bakteri hücre duvarının peptidoglikan tabakasının sentezinin son basamağını (transpeptidaz reaksiyonunu) inhibe etmek ve otolitik enzimleri aktive etmek suretiyle bakterisidal etki oluştururlar. Sitoplazmik membran üzerine yerleşmiş bulunan trans peptidazlara ve penisilin bağlayan proteinlere karşı yüksek afinite gösterirler. Sefalosporinler dokuların çoğuna penisilinler oranla daha iyi nüfuz ederler. Kemik dokusuna girmeleri de yeterli derecede olur. Ancak göz ve prostata girişleri yetersizdir. Sefalosporinler iltihap olduğu takdirde sinoviyal, peritoneal ve perikardiyal sıvılara yeterli derecelerde girebilirler. Sefalosporinlerin çoğu vücutta metabolize edilmeden tübüler salgılama ve glomerüler filtrasyonla böbrekler yoluyla atılırlar. Çoğu karaciğerden safraya düşük oranda fakat terapötik konsantrasyonda itrah edilir.

##### 2.4.4.1. Sefuroksim:

İkinci kuşak bir sefalosporindir. Parenteral formu sefuroksim sodyum iken, oral formu sefuroksim aksetil yapısındadır. %33 oranında plazma proteinlerine bağlanır, BOS'a iyi girer. %50 si değişmeden böbrekler yoluyla atılır. Eliminasyon yarı ömrü 1.1 saattir. Aksetil formu oral olarak kullanılır. Sefuroksim'in mide barsak kanalından yeterince emilebilen aksetil esteridir. Aksetil formu ön ilaçtır. Emildikten sonra karaciğerde hidrolize edilerek sefuroksime dönüşür (19).

## GEREÇ VE YÖNTEM

### 3.1.1 Antibiyotik işaretleme ve geliştirme aşamaları:

Bu çalışmada; moksifloksasin, sefuroksim sodyum, klindamisin fosfat, amikasin sülfat ve streptomisinden oluşan 5 farklı antibiyotik, Tc-99m ile bağlandı. Bunlardan sadece moksifloksasin başka bir araştırmadaki bağlanma yöntemine göre işaretlenmekle birlikte, sefuroksim sodyum, klindamisin fosfat, amikasin sülfat ve streptomisin sülfat tamamen benzer teknikler kullanılarak bizim tarafımızdan işaretlenmiştir. Bunlardan moksifloksasin, sefuroksim ve klindamisin hayvan enfeksiyon modelinde kullanılmış olup, amikasin ve streptomisin için sadece bağlanma yüzdeleri ve stabiliteleri araştırılmıştır.

Geliştirme aşamaları:

Bizim işaretlediğimiz antibiyotikler için şu geliştirme aşamaları kullanılmıştır:

- Antibiyotiklerin Tc-99m ile bağlanması için gerekli olan optimum kalay klorürün dozunun bulunması; bunun için, kalay klorürün değişik dozlarındaki bağlanma yüzdeleri hesaplandı.

-Bağlanma için gereken optimum inkübasyon süresinin belirlenmesi; bunun için, değişik inkübasyon sürelerindeki bağlanma yüzdeleri tek tek hesaplandı

-Ayrıca bağlı antibiyotiklerin stabilitelerinin araştırılması için serum fizyolojik ve plazma kontrollü yapılan zamana göre ayrışma yüzdelerinin hesaplanması (Kalite kontrol yöntemlerinde bahsedilmiştir).

Bu geliştirme aşamalarının neticesinde;

#### 3.1.1.1. Tc 99m ile moksifloksasin işaretleme tekniği:

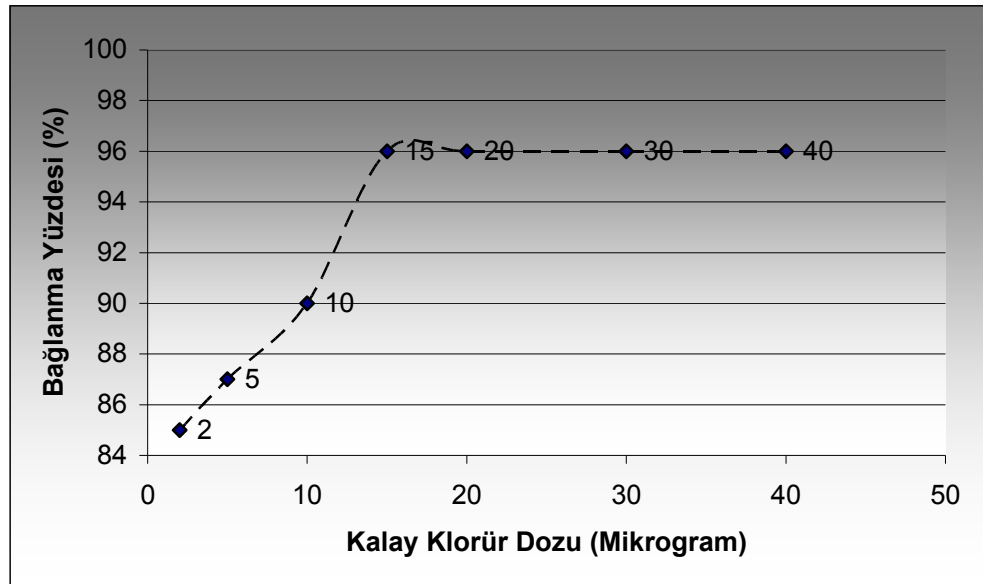
2.5 ml de 4mg moksifloksasin (Avelox<sup>R</sup> 400 mg i.v. infüzyon solusyonu, Bayer, Türkiye) 100mg/100ml kalay klorür (Merck, Germany) solusyonundan 5 mikro litre ve 740-1480 MGq (20-40 mCi) Tc-99m olacak şekilde basitçe karıştırılarak hazırlandı. Solusyon oda ısısında 5 dk. inkübasyona bırakıldı (20).

### 3.1.1.2. Tc 99m ile sefuroksim sodyum işaretleme tekniği:

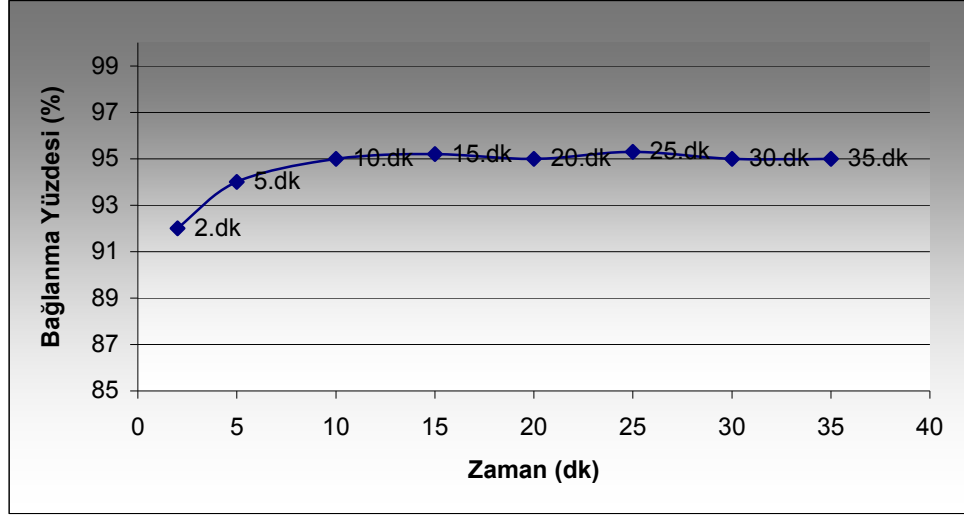
İlk olarak sefuroksim sodyumun Tc-99m ile bağlanması için gerekli olan optimum kalay klorür dozu hesaplandı. Bunun için 0.5 mg sefuroksim sodyum 12-14 mCi Tc-99m ile kalay klorürün değişik dozları ile (2, 5, 10, 15, 20, 30, 40µg) ayrı ayrı bağlandı. Bağlanma yüzdeleri hesaplanarak en uygun kalay klorür dozu bulundu. Optimum bağlanma yüzdesi 15µg kalay klorür dozunda %96 olarak bulundu. Bunun üzerindeki kalay klorür dozunun bağlanmaya herhangi bir katkısının olmadığı gözlemlendi. (Şekil 1).

Optimum bekleme zamanının bulunması için 0.5 mg sefuroksim sodyum 12-14 mCi Tc-99m ve 15µg kalay klorür ile bağlandıktan sonra; 2., 5., 10., 15., 20., 25., 30. ve 35. dk.'lardaki bağlanma yüzdeleri hesaplandı. En yüksek bağlanma yüzdesine %95 olarak 15. dk'da ulaşıldı. İlerleyen sürelerde bağlanma yüzdesinin anlamlı derecede değişmediği gözlemlendi (Şekil 2).

**Şekil 1.** Sefuroksim sodyum için kalay klorürün farklı dozlarındaki bağlanma yüzdeleri.



**Şekil 2.** Sefuroksim sodyum için farklı inkübasyon sürelerindeki bağlanma yüzdeleri.



Bu aşamalardan geçtikten sonra, hayvan modelinde kullanılacak olan Tc-99m-Sefuroksim şu şekilde elde edildi:

0.5 mg Sefuroksim sodyum (Zinnat<sup>R</sup> 250 mg flakon, GlaxoSmithKline, Türkiye) vial eklendi. Redükleyici ajan olarak 15µg kalay klorür eklendi. 12-14 mCi Tc-99m eklenip vial içerisindeki hava enjektörle çekildikten sonra oda ısısında 15 dk. inkübasyona bırakılarak hazırlandı.

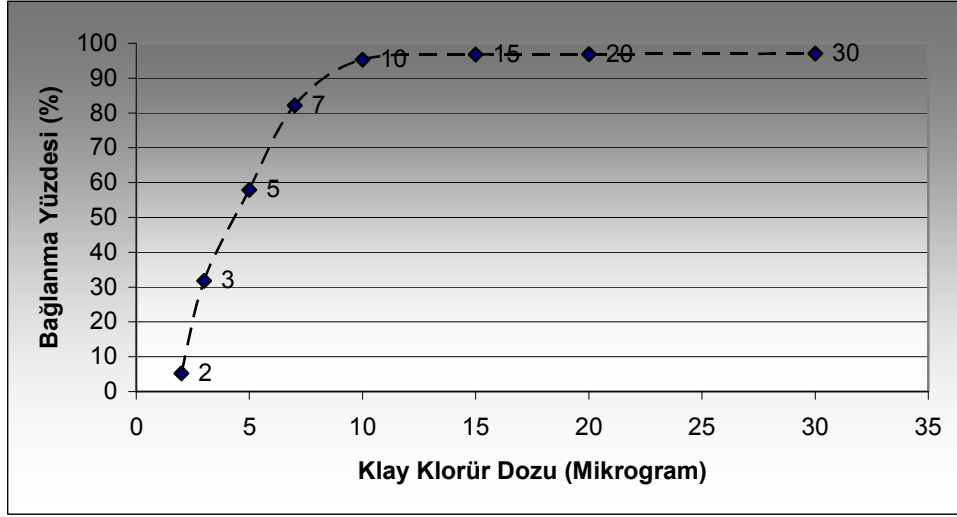
### 3.1.1.3. Tc 99m ile streptomisin işaretleme tekniği:

Benzer şekilde streptomisin Tc-99m ile bağlanması için gerekli olan optimum kalay klorür dozu hesaplandı. Bunun için 1 mg streptomisin sülfat 10-12 mCi Tc-99m ile kalay klorürün değişik dozları ile (2, 3, 5, 7, 10, 15, 20, 30 µg) ayrı ayrı bağlandı. Bağlanma yüzdeleri hesaplanarak en uygun kalay klorür dozu bulundu. Optimum bağlanma yüzdesi 10µg kalay klorür dozunda %95 olarak bulundu. Bundan daha yüksek kalay klorür dozlarında bağlanma yüzdesi bir miktar artsa da çok anlamlı olmadığı düşünüldü ve kalay klorür kirliliği yaratmamak için 10µg optimum doz kabul edildi (Şekil 3).

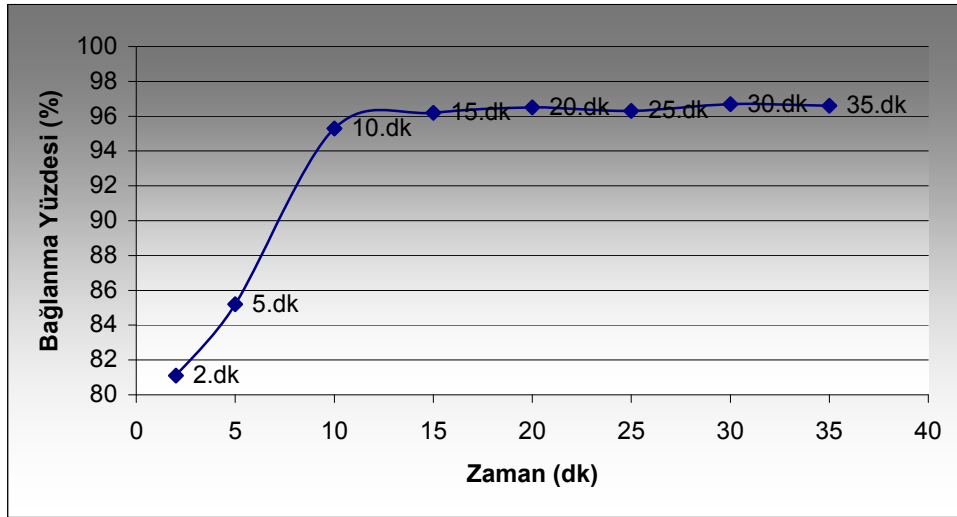
Optimum bekleme zamanının bulunması için 1 mg streptomisin sülfat 10-12 mCi Tc-99m ve 10µg kalay klorür ile bağlandıktan sonra; 2., 5., 10., 15., 20., 25., 30. ve 35. dk.'lardaki bağlanma yüzdeleri hesaplandı. En yüksek bağlanma

yüzdesine %96.7 ile 30. dk'da ulaşıldı. Ancak aradaki farkın çok az olması nedeniyle optimum bağlanma süresi %96.2 ile 15.dk kabul edildi. (Şekil 4).

**Şekil 3.** Streptomisin sülfat için kalay klorürün farklı dozlarındaki bağlanma yüzdeleri.



**Şekil 4.** Streptomisin sülfat için farklı inkübasyon sürelerindeki bağlanma yüzdeleri.



Kalite kontrol için kullanılan Tc-99m-Streptomisin şu şekilde hazırlandı:

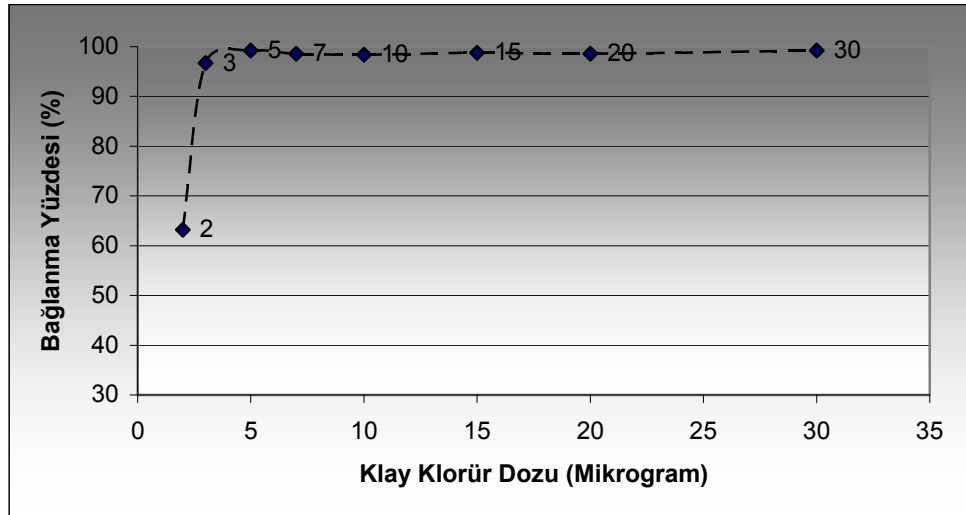
1 mg streptomisin (Streptomisin<sup>R</sup> 1 gr flakon, İ.E. Ulagay, Türkiye), 10 µg kalay klorür ve 10-12 mCi Tc-99m vialine ilave edilip 1-2 kez çalkalandıktan sonra vial içerisindeki hava enjektörle çekildi ve 15 dk. oda ısısında inkübasyona bırakıldı.

#### 3.1.1.4. Tc 99m ile amikasin işaretleme tekniği:

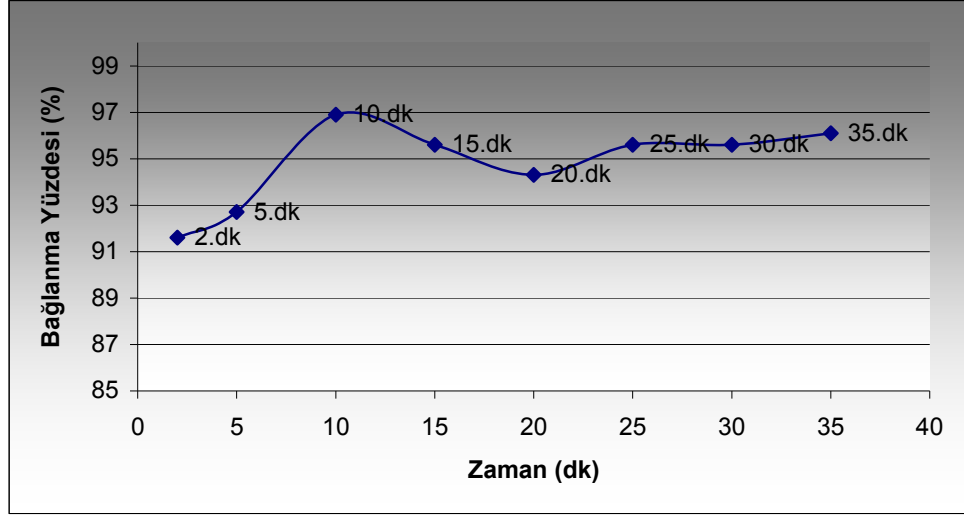
Amikasin sülfatın Tc-99m ile bağlanması için gerekli olan optimum kalay klorür dozu hesaplandı. Bunun için 1 mg amikasin sülfat 10-12 mCi Tc-99m ile kalay klorürün değişik dozları ile (2, 3, 5, 7, 10, 15, 20, 30 µg) ayrı ayrı bağlandı. Bağlanma yüzdeleri hesaplanarak en uygun kalay klorür dozu bulundu. Optimum bağlanma yüzdesi 5µg kalay klorür dozunda %99.2 olarak bulundu. Bundan daha yüksek kalay klorür dozlarında bağlanma yüzdesinin anlamlı değişim göstermediği izlendi. (Şekil 5).

Optimum bekleme zamanının bulunması için 1 mg amikasin sülfat 10-12 mCi Tc-99m ve 5µg kalay klorür ile bağlandıktan sonra; 2., 5., 10., 15., 20., 25., 30. ve 35. dk.'lardaki bağlanma yüzdeleri hesaplandı. En yüksek bağlanma yüzdesine %96.9 ile 10. dk'da ulaşıldı. (Şekil 6).

**Şekil 5.** Amikasin sülfat için kalay klorürün farklı dozlarındaki bağlanma yüzdeleri.



**Şekil 6.** Amikasin sülfat için farklı inkübasyon sürelerindeki bağlanma yüzdeleri.



Kalite kontrollerde kullanılan Tc-99m-Amikasin aşağıdaki şekilde hazırlandı:

1mg amikasin sülfat (Amikozit<sup>R</sup> 100 mg flakon, Eczacbaşı, Türkiye) 5µg kalay klorür ve 10-12 mCi Tc-99m ile basit karıştırma yapıp 2-3 sn çalkalandıktan sonra vial içerisindeki hava enjektörle çekildi ve oda ısısında 10 dk. inkübasyona bırakıldı.

#### 3.1.1.5. Tc 99m ile klindamisin işaretleme tekniği:

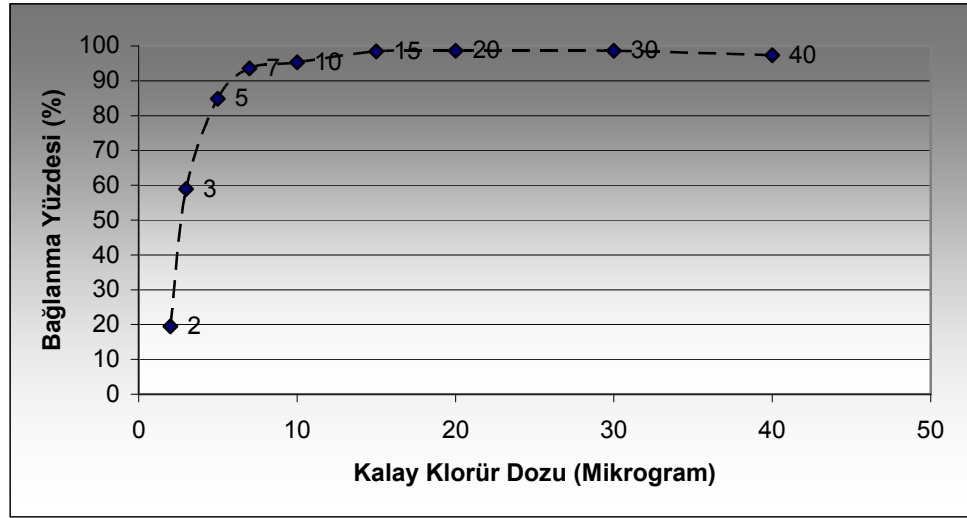
Öncelikle diğerlerinde olduğu gibi klindamisin fosfatın Tc-99m ile bağlanması için gerekli olan optimum kalay klorür dozu hesaplandı. Bunun için 3 mg klindamsin fosfat 9-12 mCi Tc-99m ile kalay klorürün değişik dozları ile (2, 3, 5, 7, 10, 15, 20, 30, 40 µg) ayrı ayrı bağlandı. Bağlanma yüzdeleri hesaplanarak en uygun kalay klorür dozu bulundu. Optimum bağlanma yüzdesi 15µg kalay klorür dozunda %98.4 olarak bulundu. Bundan daha yüksek kalay klorür dozlarında bağlanma yüzdesinin anlamlı değişim göstermedi. (Şekil 7).

Yine optimum bekleme zamanının bulunması için 3 mg klindamin fosfat 9-12 mCi Tc-99m ve 15 µg kalay klorür ile bağlandıktan sonra; 2., 5., 10., 15., 20., 25., 30. ve 35. dk.'lardaki bağlanma yüzdeleri hesaplandı. En yüksek bağlanma yüzdesine %96.1 ile 10. dk'da ulaşıldı. (Şekil 8).

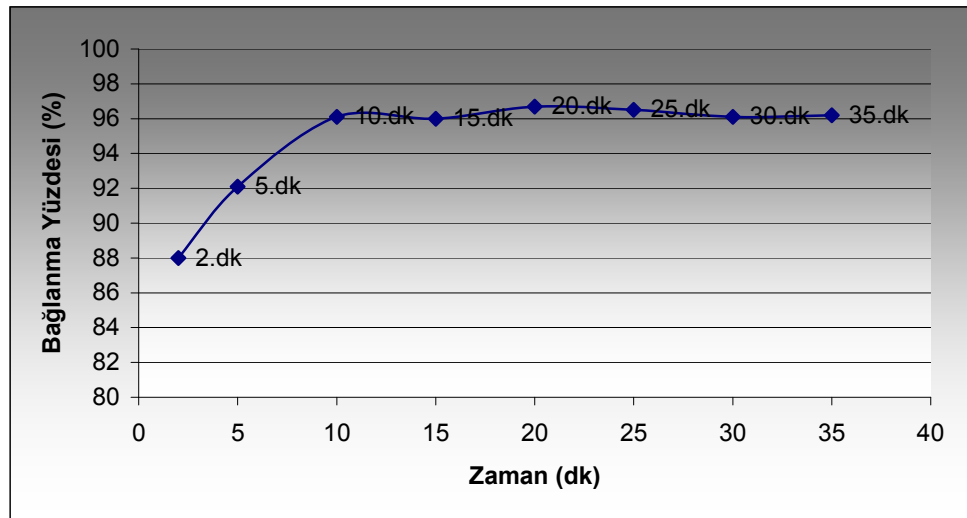
Böylece hayvan modelinde kullanılacak olan Tc-99m-Klindamisin aşağıdaki şekilde hazırlandı:

3 mg klindamisin fosfat (Klindan<sup>R</sup> 300 mg Ampul, Bilim, Türkiye) 10-15 mCi Tc-99m (SF ile 1ml ye tamamlandı), 15 µg kalay klorür ile basit karıştırma yapıp 2-3 sn çalkalandıktan sonra vial içerisindeki hava enjektörle çekildi ve oda ısısında 10 dk. inkübasyona bırakıldı.

Şekil 7. Klindamisin fosfat için kalay klorürün farklı dozlarındaki bağlanma yüzdeleri.



Şekil 8. Klindamisin fosfat için farklı inkübasyon sürelerindeki bağlanma yüzdeleri.

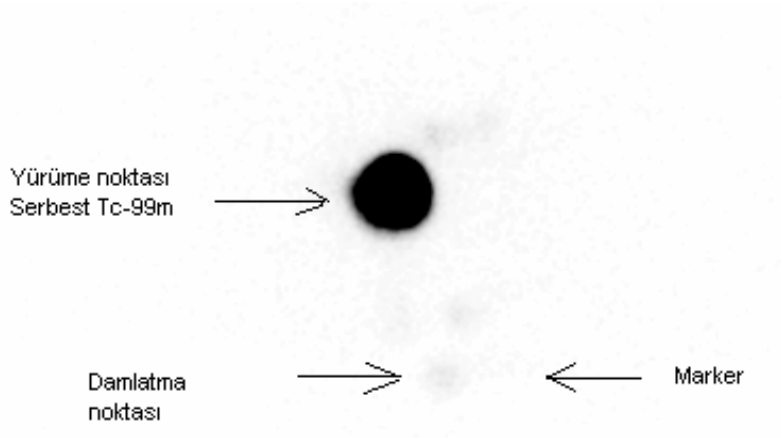


### 3.1.2. Kalite kontrol yöntemleri

#### 3.1.2.1. Bağlanma yüzdelerinin hesaplanması:

Bağlanma yüzdeleri standart kalite kontrol yöntemlerinde biraz değişiklik yapılarak uygulandı. Rutin kullanılan kitlerde kullanılan taşıyıcılar küçük olduğu için gamma kamerada görüntülemeye uygun taşıyıcı kullanıldı. Taşıyıcı olarak 1.5 cm eninde ve 20 cm boyunda ince tabaka kromotografi kağıdı (İTC) (Saturasyon Pads, Analtech, DE) kullanıldı. Mobil faz olarak aseton kullanıldı. Öncelikle yöntemin kullanılabilirliğini araştırmak için 15 µl Tc-99m, saturasyon kağıdının alt kısmına, 2 cm yukarıya damlatıldı. Damlatma kısmının aseton içine girmemesine dikkat edildi ve aseton ortamında yürütüldü. Gamma kamerada 1dk'lık statik görüntüsü alındı.

**Şekil 9.** Tc-99m'un kromotografi kağıdında yürütüldükten sonra Gamma kamerada görüntülenmesi. *Serbest Tc-99m'un ileri hareket ettiği gösterildi.*



30-50 µCi Tc-99m ile hazırlanmış marker ile damlatma noktası ve asetonun yürüdüğü uç nokta kamera altında işaretlendi. Burada Tc-99m'un yukarı uç noktaya hareket ettiği gözlemlendi.

Benzer şekilde sadece antibiyotiğin damlatıldığı İTC kağıtları asetonunda yürütüldükten sonra ultra viole (UV) ışığı altında (Vilber Lourmat, France) görüntülendi (Şekil 9, 10, 11).

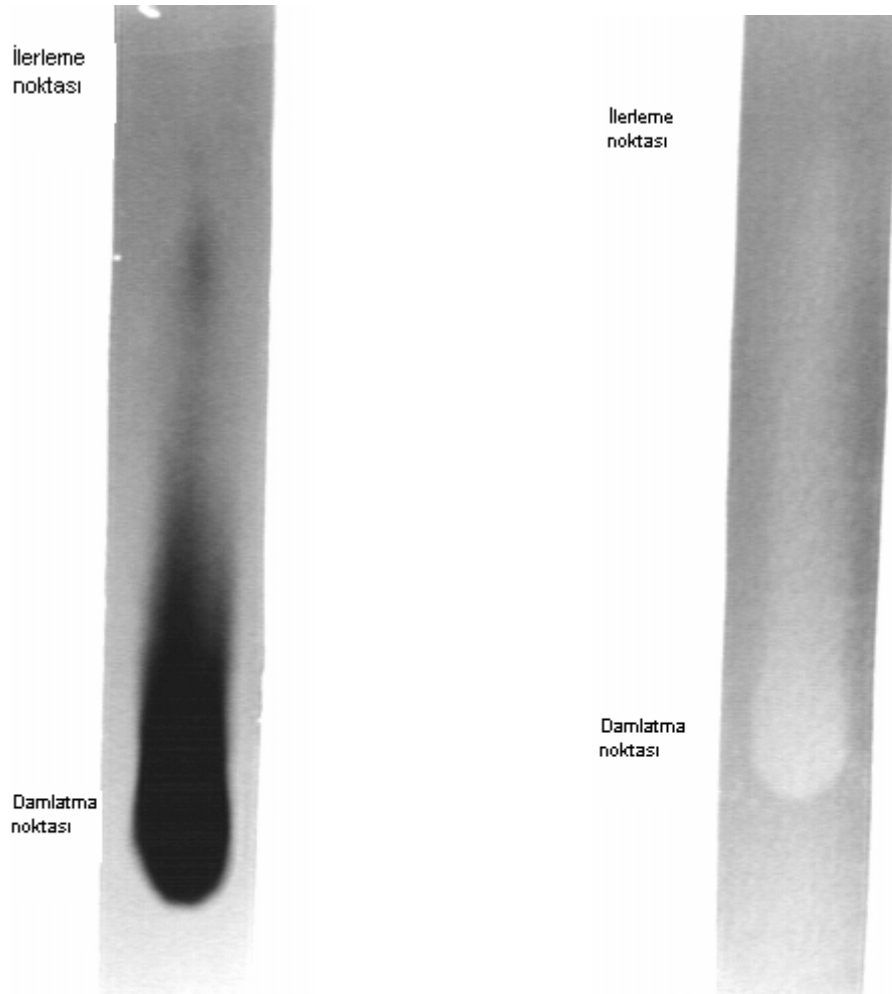
Bağlı antibiyotikler benzer şekilde, 15 µl ITC kağıdına damlatıldıktan sonra asetonunda yürütüldü. Daha sonra gamma kamera altında 1 dk.lık görüntüleri alındı. Bağlı antibiyotiklerin tümü damlatma noktasında kaldığı gözlemlendi. Bir miktar

serbest Tc-99m'in İTC kağıdının üst noktasına yürüdüğü görüldü (Şekil 12, 13, 14).

Antibiyotiklerin bağlanma yüzdesini hesaplamak için; İTC kağıdının alt ve üst bölgesindeki aktivite tutulum alanlarından ilgi alanları çizildi. Alt kesimdeki aktivite tutulumunun (bağlı antibiyotik) sayımı toplam sayıma oranlandı ve bağlanma yüzdeleri bu şekilde hesaplandı.

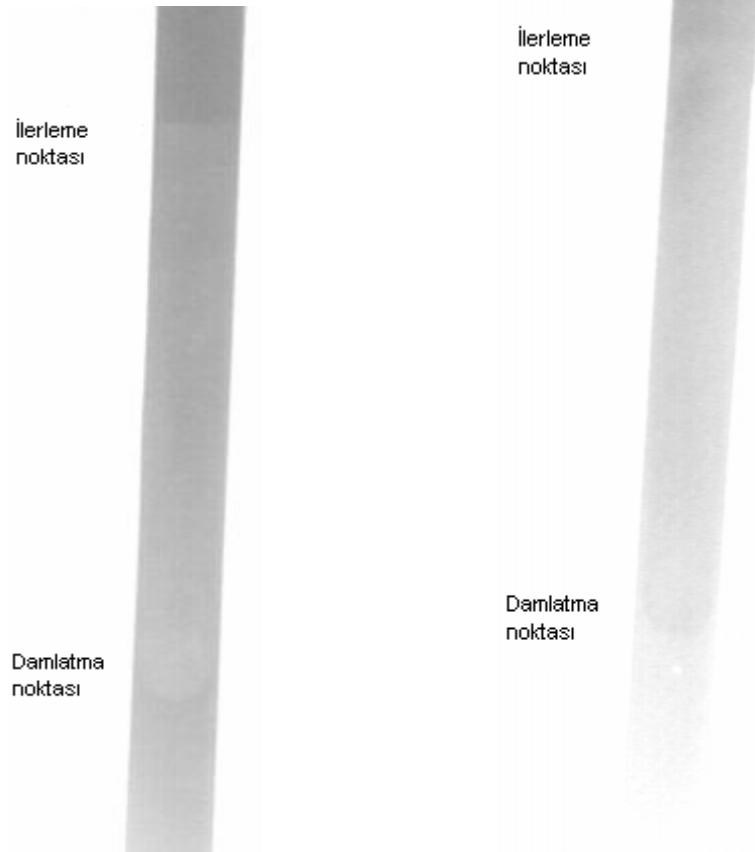
**Şekil 10.** Kromotografının UV ışığı ile değerlendirilmesi.

*Moksifloksasin (solda) ve sefuroksim sodyum'a ait (sağda) görüntülerde her iki "serbest" antibiyotiğin İTC kağıdında bir miktar ilerlemekle birlikte, çoğunlukla damlatma yerinde kaldıkları izlenmektedir.*



**Şekil 11.** Kromotografinin UV ışığı ile değerlendirilmesi.

*Klindamisin (solda) ve amikasin'e ait (sağda) görüntülerde her iki "serbest" antibiyotiğin İTC kağıdında bir miktar ilerlemekle birlikte, çoğunlukla damlatma yerinde kaldıkları izlenmektedir.*



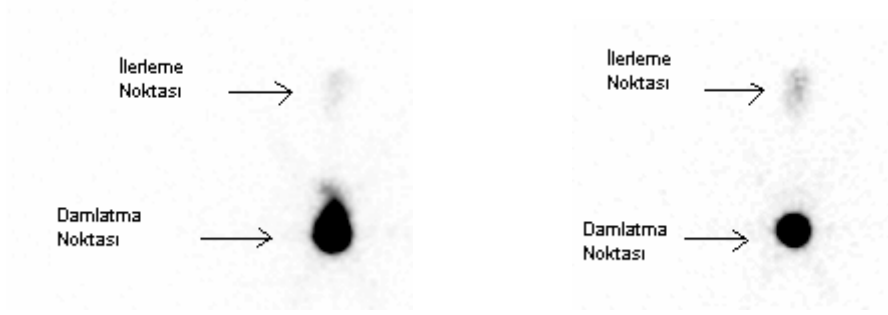
**Şekil 12.** Kromotografinin UV ışığı ile değerlendirilmesi.

*Streptomisine ait görüntüde “serbest” antibiyotiğin İTC kağıdında damlatma yerinde kaldığı izlenmektedir.*



Antibiyotik bağlanma yüzdeleri Tc-99m-Moksifloksasin için %95, Tc-99m-Sefuroksim için %95, Tc-99m-Klindamisin için %99, Tc-99m-Amikasin için %99 ve Tc-99m-Streptomisin için %98 olarak bulundu.

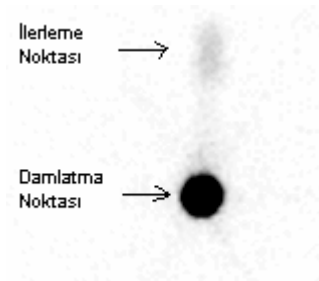
**Şekil 13.** Tc-99m-Amikasin (solda) ve Tc-99m-Klindamisin (sağda) ITC şeridinde gamma kamerada görüntülenmesi.



**Şekil 14.** Tc-99m-Streptomisin (solda) ve Tc-99m-Sefuroksimin (sağda) ITC şeridinde gamma kamerada görüntülenmesi.



**Şekil 15.** Tc-99m-Moksifloksasinin ITC şeridinde gamma kamerada görüntülenmesi



### 3.1.2.2. Bağlı antibiyotiklerin stabiliteilerinin araştırılması:

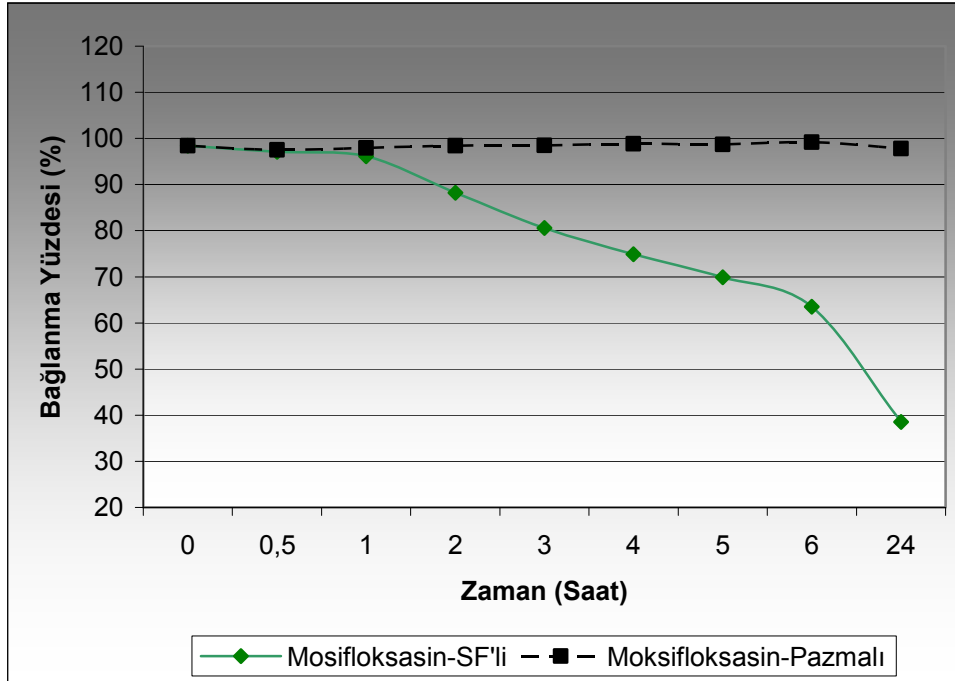
#### 3.1.2.2.1. Tc-99m-Moksifloksasin:

8 mg moksifloksasin, 10 µg kalay klorür ve 40 mCi Tc-99m ile bağlanma yapıp 20 dk. inkübasyona bırakılı. Daha sonra 20 mCi'lik iki ayrı flakona ayrıldı. Flakonlardan birisine 1ml SF, diğerine ise 1ml Plazma eklendi. 30.dk, 1., 2., 3., 4., 5., 6. ve 24. saatlerdeki bağlanma yüzdelere bakılarak Tc-99m ve moksifloksasinin ayrışması araştırıldı. Tc-99m-Moksifloksasinin 2. saatteki bağlanma yüzdesi %88.2 bulundu. Buna göre kitin hazırlandıktan sonra 2 saat içerisinde kullanılması uygun görünmektedir (Şekil 16). Sankha ve ark.'larının çalışmasında 5. dk.'daki bağlanma %94.6, 1. saatte %92.6, 3. saatte ise %84.3 olarak bulmuşlar (20). Bizim bağlanma oranlarımız da onların ki ile benzerlik göstermektedir (Tablo 1, Şekil 16).

**Tablo 1.** Tc-99m-Moksifloksasinin zamana göre bağlanma yüzdeleri

	30.dk	1.Saat	2.Saat	3.Saat	4.Saat	5.Saat	6.Saat	24.Saat
SF'li	97.1	96.1	88.2	80.6	74.9	69.9	63.5	38.5
Plazmalı	97.5	97.9	98.4	98.5	98.8	98.7	99.2	97.8

**Şekil 16.** Tc-99m-Moksifloksasinin stabilite grafiği.



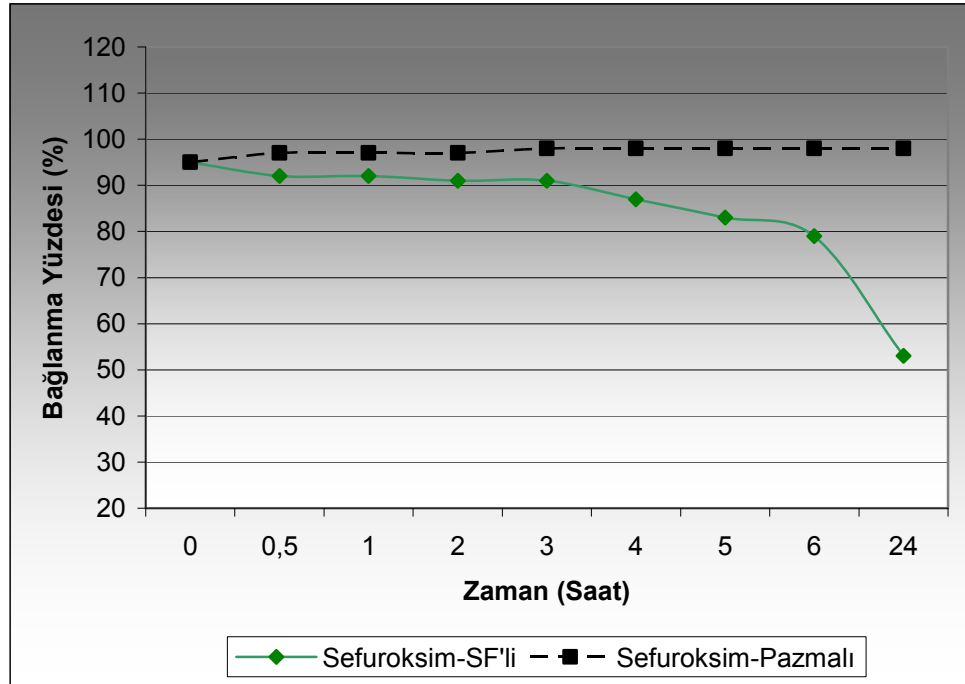
### 3.1.2.2.2. Tc-99m-Sefuroksim:

1 mg sefuroksim, 30 µg kalay klorür ve 28 mCi Tc-99m ile bağlanma yapıp 15 dk. inkübasyona bırakılı. Daha sonra 14 mCi lik iki ayrı flakona ayrıldı. Flakonlardan birisine 1ml SF, diğerine ise 1ml Plazma eklendi. 30.dk, 1.,2.,3.,4.,5.,6. ve 24. saatlerdeki bağlanma yüzdelere bakılarak Tc-99m ve sefuroksimin ayrışması araştırıldı. Tc-99m-sefuroksimin 4.saatteki bağlanma yüzdesi %87 bulundu. Buna göre kitin hazırlandıktan sonra 4 saat içerisinde kullanılması uygun görünmektedir (Tablo 2, Şekil 17).

**Tablo 2.** Tc-99m-Sefuroksimin zamana göre bağlanma yüzdeleri

	30.dk	1.Saat	2.Saat	3.Saat	4.Saat	5.Saat	6.Saat	24.Saat
SF'li	92	92	91	91	88	83	79	53
Plazmalı	97	97	97	98	98	98	98	98

**Şekil 17.** Tc-99m-Sefuroksimin stabilite grafiği.



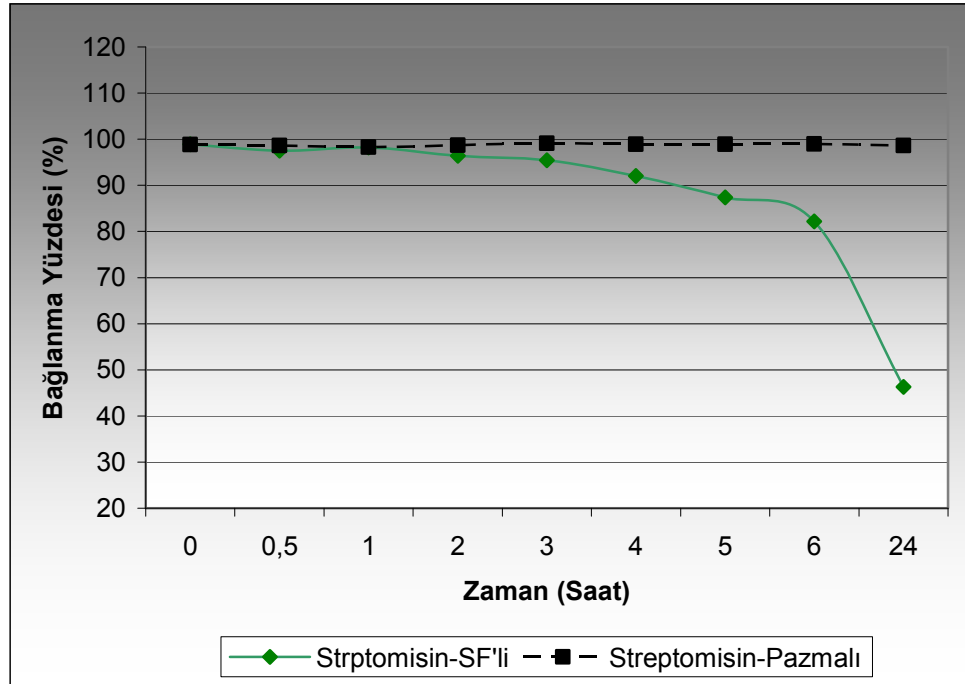
### 3.1.2.2.3. Tc-99m-Streptomisin:

2 mg streptomisin, 20 µg kalay klorür ve 24 mCi Tc-99m ile bağlanma yapıp 15 dk. inkübasyona bırakılı. Daha sonra 12 mCi'lik iki ayrı flakona ayrıldı. Flakonlardan birisine 1ml SF, diğerine ise 1ml Plazma eklendi. 30.dk, 1., 2., 3., 4., 5., 6. ve 24. saatlerdeki bağlanma yüzdelere bakılarak Tc-99m ve streptomisin ayrışması araştırıldı. Tc-99m-Streptomisinin 5.saatteki bağlanma yüzdesi %87.4 bulundu. Buna göre kitin hazırlandıktan sonra 5 saat içerisinde kullanılması uygun görünmektedir (Tablo 3, Şekil 18 ).

**Tablo 3.** Tc-99m-Streptomisinin zamana göre bağlanma yüzdeleri

	30.dk	1.Saat	2.Saat	3.Saat	4.Saat	5.Saat	6.Saat	24.Saat
SF'li	97.5	98.2	96.4	95.4	92	87.4	82.2	46.3
Plazmalı	98.6	98.3	98.7	98.1	98.9	98.9	99	98.6

**Şekil 18.** Tc-99m-Streptomisinin stabilite grafiği.



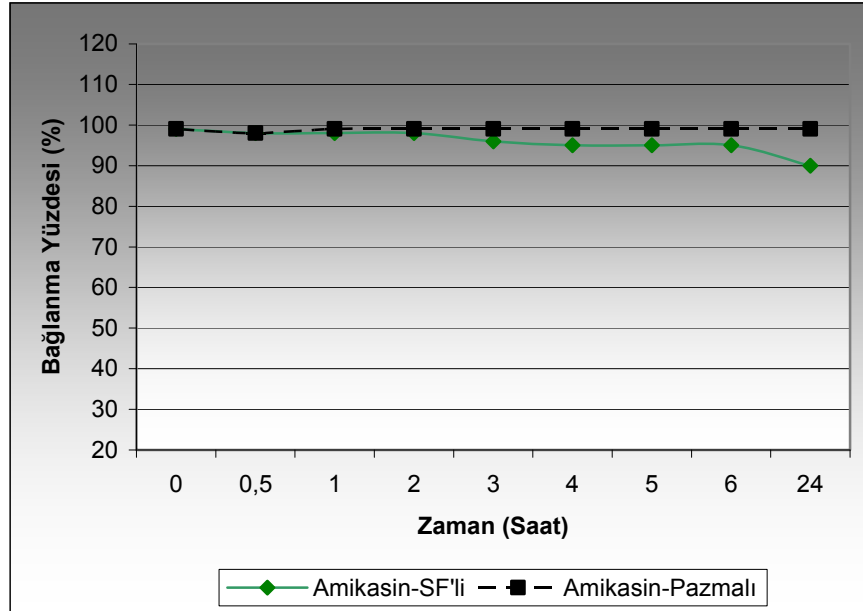
### 3.1.2.2.4. Tc-99m-Amikasin:

2 mg amikasin, 10 µg kalay klorür ve 24 mCi Tc-99m ile bağlanma yapıp 15 dk. inkübasyona bırakılı. Daha sonra 12 mCi'lik iki ayrı flakona ayrıldı. Flakonlardan birisine 1ml SF, diğerine ise 1ml Plazma eklendi. 30.dk, 1., 2., 3., 4., 5., 6. ve 24. saatlerdeki bağlanma yüzdelere bakılarak Tc-99m ve amikasin ayrışması araştırıldı. Tc-99m-amikasin 24. saate kadar stabil oluşu gözlemlendi 24.saatteki bağlanma yüzdesi %90 olarak bulundu. (Tablo 4, Şekil 19).

**Tablo 4.** Tc-99m-Amikasinin zamana göre bağlanma yüzdeleri

	30.dk	1.Saat	2.Saat	3.Saat	4.Saat	5.Saat	6.Saat	24.Saat
SF'li	98	98	98	96	95	95	95	90
Plazmalı	98	99	99	99	99	99	99	99

**Şekil 19.** Tc-99m-Amikasinin stabilite grafiği



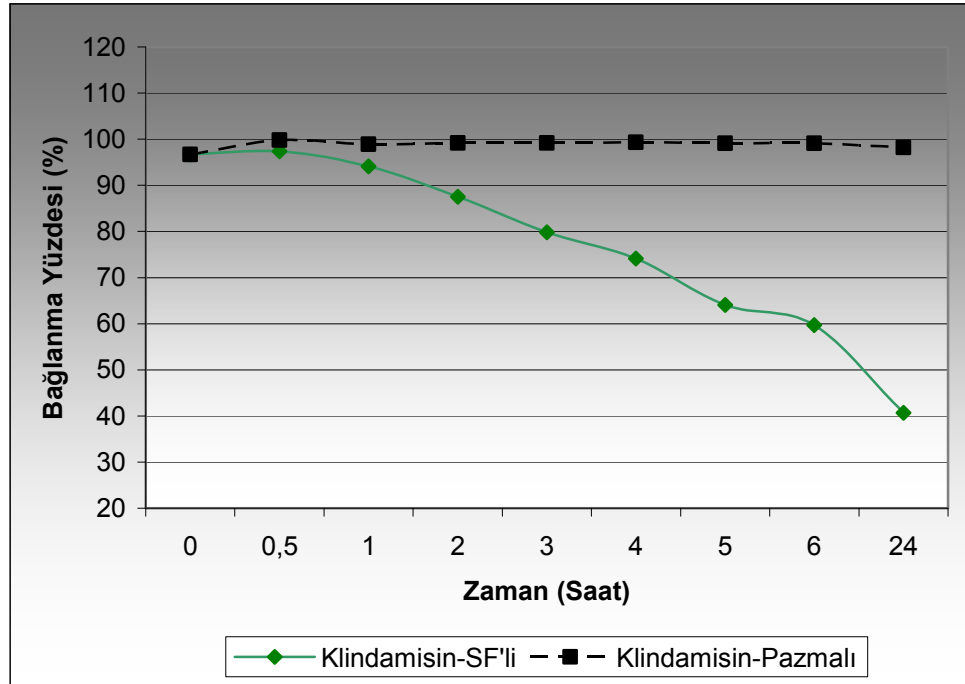
### 3.1.2.2.5. Tc-99m-Klindamisin:

6 mg klindamisin, 30 µg kalay klorür ve 26 mCi Tc-99m ile bağlanma yapıp 15 dk. inkübasyona bırakılı. Daha sonra 13 mCi'lik iki ayrı flakona ayrıldı. Flakonlardan birisine 1ml SF, diğerine ise 1ml Plazma eklendi. 30.dk, 1., 2., 3., 4., 5., 6. ve 24. saatlerdeki bağlanma yüzdelere bakılarak Tc-99m ve klindamisin ayrışması araştırıldı. Tc-99m-Klindamisinin 2.saatteki bağlanma yüzdesi %87.5 bulundu. Buna göre kitin hazırlandıktan sonra 2 saat içerisinde kullanılması uygun görünmektedir (Tablo 5, Şekil 20).

**Tablo 5.** Tc-99m-Klindamisinin zamana göre bağlanma yüzdeleri

	30.dk	1.Saat	2.Saat	3.Saat	4.Saat	5.Saat	6.Saat	24.Saat
SF'li	97.4	94.1	87.5	79.8	74.1	64.1	59.7	40.7
Plazmalı	99.8	98.9	99.2	99.2	99.3	99.1	99.1	98.2

**Şekil 20.** Tc-99m-Klindamisinin stabilite grafiği



### 3.1.2.3. Bağlı antibiyotiklerin antimikrobik etkinliklerinin araştırılması:

Burada amaç Tc-99m ile bağlı antibiyotiklerin antimikrobiyal etkinliklerinde bir değişiklik olup olmadığını araştırmaktı. Bu amaçla Mueller-Hinton besi yerine S.Aureus standart suşundan (ATCC 25923) ekim yapıldı. Daha sonra Tc-99m ile bağlı antibiyotiklerden ve bağlı olmayan antibiyotiklerden eşit miktarlarda steril 3MM Whatman disklerine 15µl damlatıldı. Diskler ekim yapılan yerlere yerleştirildi ve 18 saat sonra üreme inhibisyon zonları karşılaştırıldı. Bütün bağlı antibiyotikler ve bağlı olmayan antibiyotiklerde üreme inhibisyon zonları eşit bulundu. Bu durum bize bağlı antibiyotiklerin antimikrobiyal özelliklerinde değişme olmadığını gösterdi.

Tc-99m-Moksifloksasin ve moksifloksasin için: 32mm.

Tc-99m-Sefuroksim ve sefuroksim için : 30mm.

Tc-99m-Amikasin ve amikasin için : 17mm.

Tc-99m-Streptomisin ve streptomisin için : 12mm.

Tc-99m-Klindamsin ve klindamisin için : 16mm.

Şekil 21. Bağlı antibiyotiklerin ve bağlı olmayan antibiyotiklerin üreme inhibisyon zonları.



### 3.2.1. Hayvan modelinin hazırlanması:

Ağırlıkları 250-280 gr arasında değişen 30 adet 4 aylık, erkek, albino Wistar rat, 6 hayvandan oluşan 5 gruba ayrıldı. Grup1: Tc-99m-MDP grubu, Grup 2: Tc-99m Perteknetat grubu Grup 3: Tc-99m-Moksifloksasin grubu, Grup 4: Tc-99m-Sefuroksim sodum grubu, Grup 5: Tc-99m-Klindamisin grubu. 30 adet wistar rat da; aseptik gevşemeyi temsil etmek maksadıyla kemikte osteoblastik faaliyet artışına sebep olmak için 3 mg/kg ksilazin (Rompun<sup>R</sup>, Bayer, Türkiye) + 90 mg/kg ketamin (Ketalar<sup>R</sup>, Pfizer, Türkiye)'in intraperitoneal. (İ.P) uygulanması ile genel anestezi sağlandıktan sonra sağ tibiada kapalı kırık oluşturuldu ve 8 gün beklendi. Operasyon sonrası ilk üç gün 24 saatte bir, 4 mg/kg subcutan (S.C.) Carprofen (Rimadyl<sup>R</sup>, Pfizer, Türkiye) ile analjezi sağlandı. Daha sonra 8. gün  $10^{6-8}$  colony forming units (CFU) S. Aureus standart suşundan (ATCC 25923) 0.2 ml SF içinde sol baldır kasına enjekte edildi. 24 saat beklendikten sonra, 9. gün 0.5 mCi Tc-99m-Moksifloksasin kuyruk veninden enjekte edildi. Daha sonra 10., 60., 120. dakikalarda ve 24. saate 10. dk.'lık planar tüm vücut görüntüleri alındı. Daha sonra aynı çekim parametreleri kullanılarak; Tc-99m-Sefuroksim sodyum, Tc-99m-Klindamisin, Tc-99m-Perteknetat ve Tc-99m-MDP gruplarına da 10 dakikalık planar görüntüleme yapıldı. Çekim sonrası bütün gruptaki ratlar yüksek doz tiyopental sodyum'un intrakardiyak (Pental Sodyum<sup>R</sup> 1 gr İ.V Flakon, İ.E.Ulagay, Türkiye) enjeksiyonu ile sakrifiye edildi.

#### 3.2.1.1 Kontrol grupları:

Osteoblastik faaliyet artışını göstermek için Tc-99m-MDP grubu kullanıldı. Enfeksiyon yaratılan alanlardaki Tc-99m ile işaretli antibiyotik tutulumunun ve osteoblastik faaliyet artışı yaratılan alandaki işaretli antibiyotik tutulumunun anlamlı olup olmadığını değerlendirmek için ise Tc-99m-Perteknetat grubu kullanıldı. Aynı zaman diliminde aynı parametreler ile 0.5 mCi Tc-99m Perteknetat'ın kuyruk veninden uygulanmasından sonra sintigrafik görüntüleme yapıldı. Enfekte kas ve kırık alanları, normal kas ve normal kemik dokudan elde

edilmiş ve normalize edilmiş sayımlara oranlandı. Tc-99m ile işaretli her üç antibiyotik tutulumu alanlarının oranı ile karşılaştırıldı.

### **3.3. Görüntüleme parametreleri:**

Ratlara 0.2mg/kg a ksilazin + 30mg/kg a ketamin İ.P. uygulama ile genel anestezi verdikten sonra, Toshiba E-CAM 5500 çift detektörlü gamma kamera ile L.E.A.P. paralel delikli kollimatör kullanılarak 140 KeV. Enerji seviyesinde %20'lik pencerelemede 10 dakikalık 256x256 matrikste planar görüntüler elde edildi.

### **3.4. Kantitatif değerlendirme:**

Kantitatif değerlendirme için anterior pozisyon planar görüntülerden enfekte kas, normal kas, kırık kemik ve normal kemik lojundan ilgi alanları çizildi. Elde edilen sayımlardan geriplan çıkarımı yapıldıktan sonra, 1cm kareye düşen aktiviteye göre normalize edildi. Enfekte kas ve kırık tutulum alanları, normal kas ve normal kemik doku tutulum alanlarına oranlandı. Tutulumların anlamlı olup olmadığı istatistiksel olarak araştırıldı. Enfeksiyon oluşturulan kas ve osteoblastik faaliyet artışı oluşturulan kemikte ise Tc-99m ile işaretli moksifloksasin, sefuroksim sodyum ve klindamisin tutulumu olup olmadığı, varsa anlamlı olup olmadığı kantitatif olarak kontrol sintigrafisi ile karşılaştırmalı olarak araştırıldı.

### **3.5. İstatistiksel değerlendirme:**

İstatistiksel değerlendirmede; antibiyotik gruplarındaki enfeksiyon/normal doku ve kırık/normal kemik tutulum oranları, Tc-99m Grubundaki enfeksiyon/normal doku ve kırık/normal kemik oranları ile karşılaştırıldı. Tc-99m grubundaki tutulumlara göre anlamlı olup olmadıkları non parametrik Mann-Whitney testi ile değerlendirildi. P<0.05 olması istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

## BULGULAR

### 4.1. Kemik grubu

Kırık alanı/normal kemik alanı oranı 10. dk. görüntülerde ortalama  $3.72\pm 1.44$  (min 1.70; maks 5.15), 60.dk. da ortalama  $5.19\pm 2.12$  (min 2.03; maks 7.95), 120.dk. da ortalama  $5.46\pm 2.31$  (min 2.17; maks 9.07), ve 24. saatte ortalama  $14.73\pm 7.49$  (min 4.82; maks 14.73) olarak bulundu (Tablo 7). Bu sonuçlar, hayvanlarda osteoblastik faaliyet artış alanı yaratabildiğimizi gösterdi. 10.dk.'dan 24. saate doğru kırık bölgesi tutulumunun sağlam kemik alanına oranının giderek artması ise beklenen bir durumdu (Tablo 6-7, Şekil 22). Bu gruptaki ratlardan ikisi S.Aureus enjeksiyonu sonrası 2. gün içinde öldüler bu nedenle enjeksiyon sonrası 24. saat görüntüleri alınamadı.

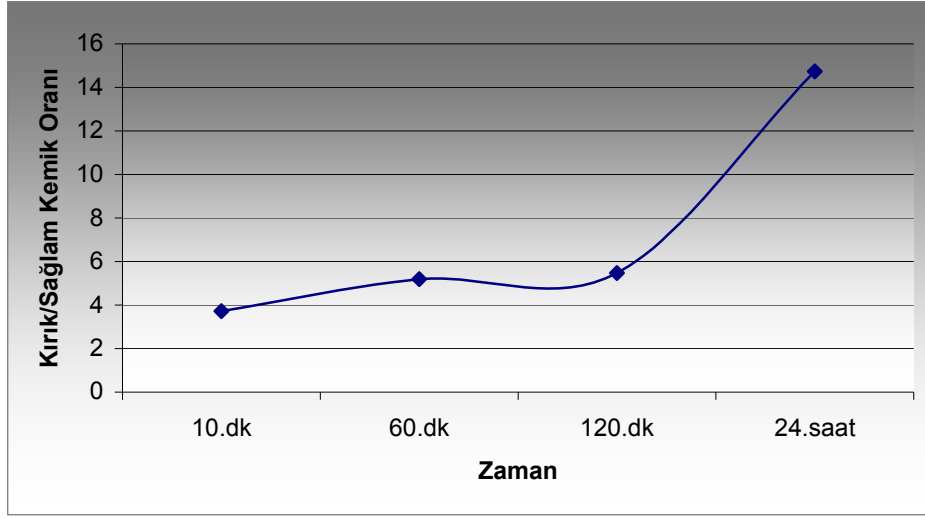
**Tablo 6.** MDP Grubunun Kırık/Normal Kemik ve Enfekte/Sağlam Doku Oranları

Tc-99m-MDP	Kırık/Sağlam Kemik Sayım Oranı				Enfekte/Sağlam Doku Sayım Oranı			
	10.dk	60.dk	120.dk	24.saat	10.dk	60.dk	120.dk	24.saat
Rat 1	5.15	6.06	5.53	EX	1.39	1.20	1.34	EX
Rat 2	4.61	5.37	5.55	EX	1.78	1.82	1.75	EX
Rat 3	1.70	2.03	2.17	4.82	4.06	2.58	1.74	1.02
Rat 4	4.57	6.29	6.44	21.85	1.03	0.87	1.51	0.88
Rat 5	4.22	7.95	9.07	13.33	1.66	1.66	1.60	0.95
Rat 6	2.11	3.44	4.06	18.93	1.37	1.63	1.37	1.44

**Tablo 7.** MDP Grubunun Kırık/Normal Kemik Oranlarının zamana göre ortalamaları.

Tc-99m-MDP	Ortalama $\pm$ SD	Minimum	Maksimum
10.dk	$3.72\pm 1.44$	1.70	5.15
60.dk	$5.19\pm 2.12$	2.03	7.95
120.dk	$5.46\pm 2.31$	2.17	9.07
24.saat	$14.73\pm 7.49$	4.82	21.85

Şekil 22. MDP Grubunda zamana göre Kırık/Sağlam Kemik tutulum oranları.

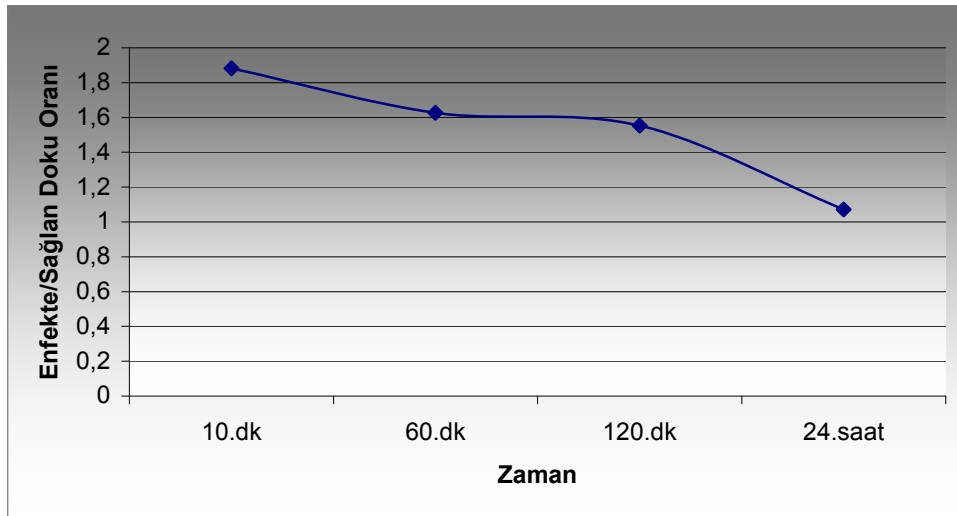


MDP Grubunda Enfekte/Sağlam Doku Sayım Oranları; 10. dk.'da 1.88 ortalama ile en yüksek iken, 24. saate doğru azalım göstermektedir (Tablo 8, Şekil 23).

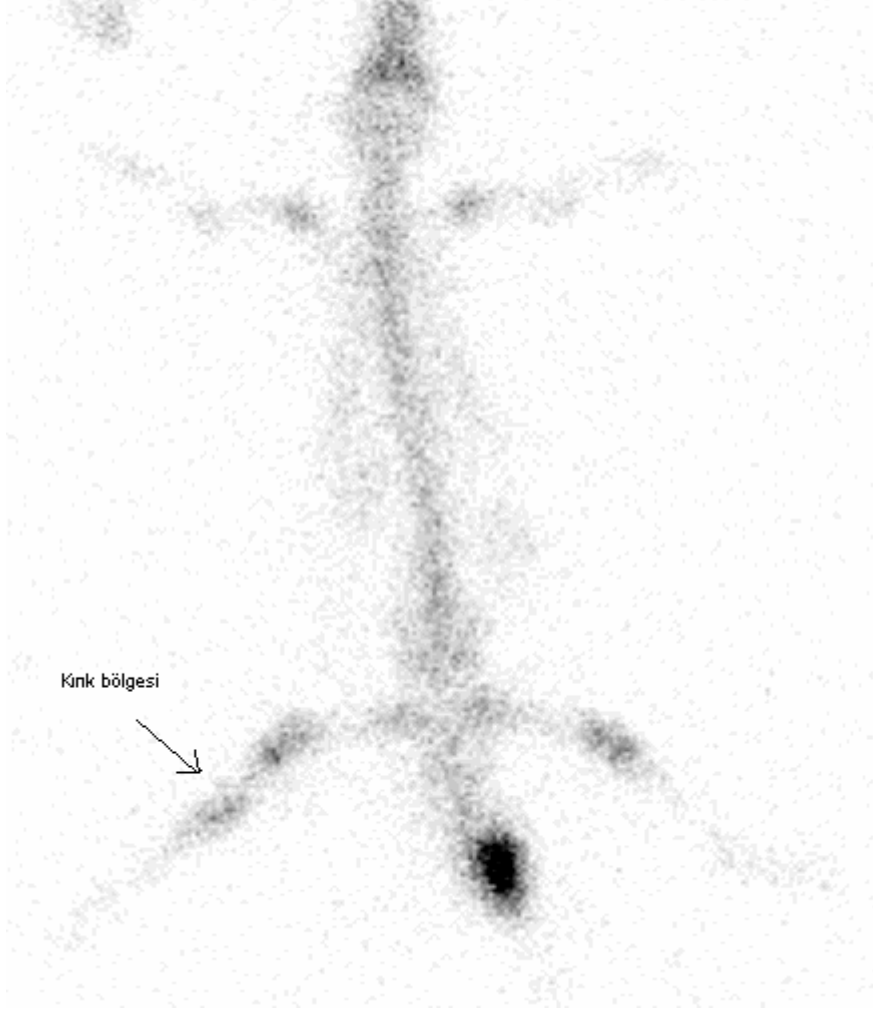
**Tablo.8** MDP Grubunun Enfekte/Sağlam Doku Sayım Oranlarının zamana göre ortalamaları.

Tc-99m-MDP	Ortalama $\pm$ SD	Minimum	Maksimum
10.dk	1.88 $\pm$ 1.09	1.03	4.06
60.dk	1.62 $\pm$ 0.58	0.87	2.58
120.dk	1.55 $\pm$ 0.17	1.34	1.75
24.saat	1.07 $\pm$ 0.25	0.88	1.44

Şekil 23. MDP Grubunda zamana göre Enfekte/Sağlam Doku tutulum oranları



**Şekil 24.** Kemik sintigrafisi grubu. 24.saatte alınan 10 dk.'lık anterior planar görüntü.



#### 4.2. Tc-99m Grubu

**Tablo 9.** Tc-99m Grubunun Kırık/Normal Kemik ve Enfekte/Sağlam Doku Oranları.

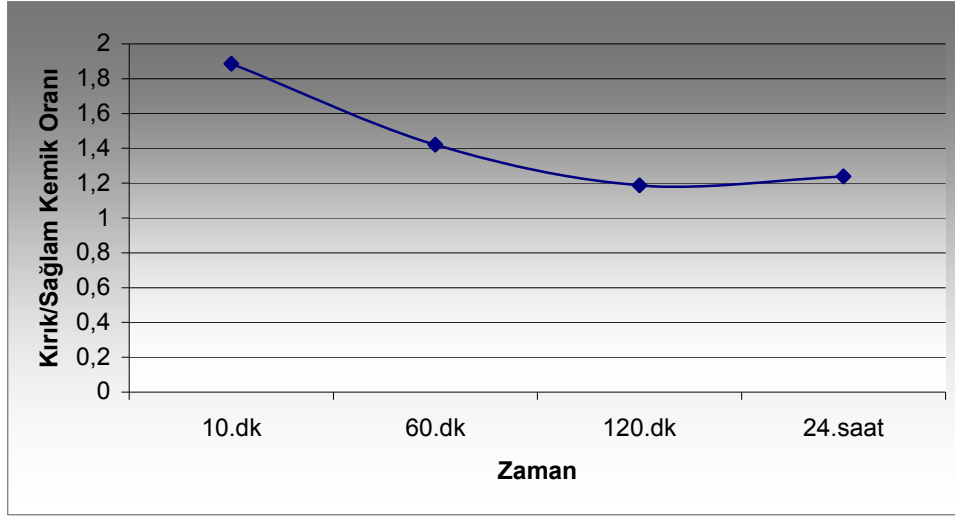
Tc-99m	Kırık/Sağlam Kemik Sayım Oranı				Enfekte/Sağlam Doku Sayım Oranı			
	10.dk	60.dk	120.dk	24.saate	10.dk	60.dk	120.dk	24.saate
Rat 1	1.26	1.04	1.04	1.25	2.56	2.92	2.54	1.08
Rat 2	1.38	1.30	1.45	0.46	1.91	3.38	3.79	4.00
Rat 3	1.05	2.29	1.20	1.82	2.15	4.22	3.42	3.94
Rat 4	2.00	1.26	1.16	1.04	3.38	2.49	3.44	0.91
Rat 5	3.39	1.50	1.22	0.86	2.49	2.22	2.04	0.77
Rat 6	2.23	1.13	1.06	2.00	1.20	1.36	1.21	0.89

Tc-99m Grubunda “kırık/sağlam kemik” oranı ilk dakikalarda fazla iken 24. saate doğru azalım göstermektedir (Tablo 10, Şekil 25).

**Tablo 10.** Tc-99m Grubu Kırık/Normal Kemik Oranları

Tc-99m	Ortalama $\pm$ SD	Minimum	Maksimum
10.dk	1.88 $\pm$ 0.86	1.05	3.39
60.dk	1.42 $\pm$ 0.45	1.04	2.29
120.dk	1.18 $\pm$ 0.14	1.04	1.45
24.saate	1.23 $\pm$ 0.58	0.46	2.00

**Şekil 25.** Tc-99m grubunda Kırık/Normal Kemik Oranları

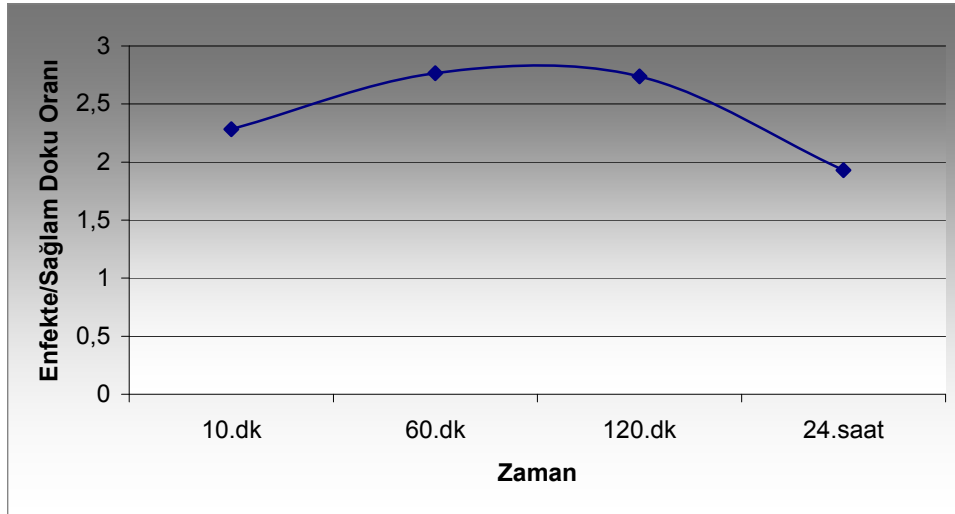


Bu grupta enfekte dokunun sağlam dokuya oranı 60.dk.'da pik yapmakta ve 24. saate doğru giderek azalmaktadır (Tablo 11, Şekil 26).

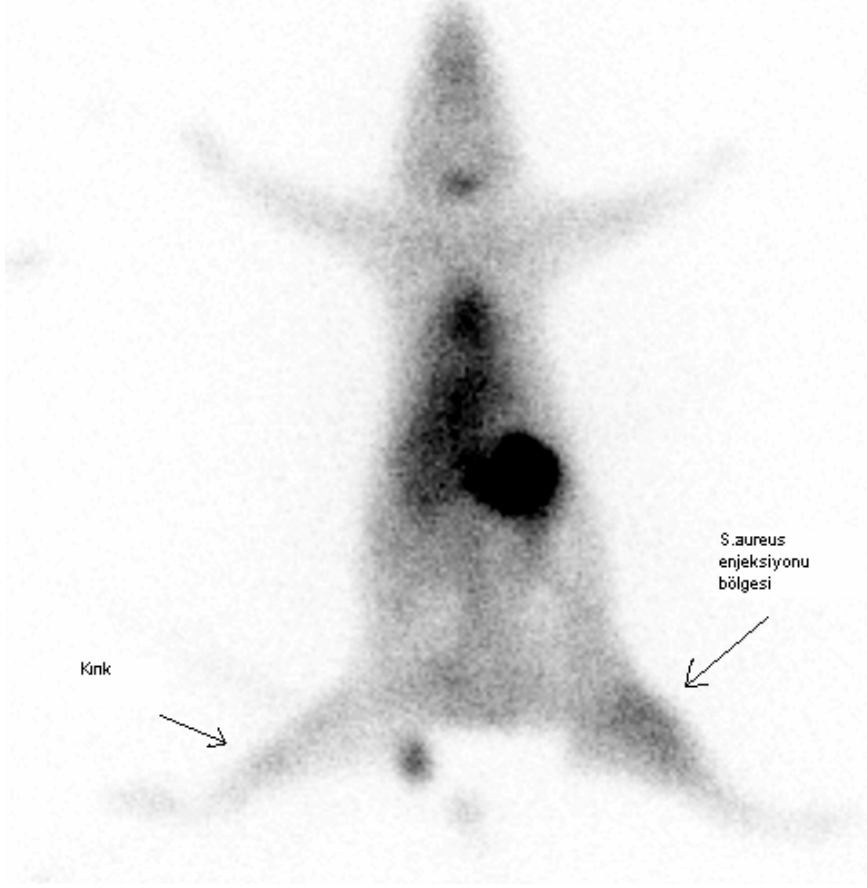
**Tablo 11.** Tc-99m grubunun Enfekte Doku/Sağlam doku tutulum oranları.

Tc-99m	Ortalama±SD	Minimum	Maksimum
10.dk	2.28±0.73	1.20	3.38
60.dk	2.76±0.98	1.36	4.22
120.dk	2.73±0.99	1.21	3.79
24.saat	1.93±1.58	0.77	4.00

**Şekil 26.** Tc-99m grubunun zamana göre Enfekte Doku/Sağlam doku tutulum oranları.



**Şekil 27.** Tc-99m Grubu 10. dakikada alınan 10.dk'lık anterior planar görüntü.



### 4.3. Tc-99m-Moksifloksasin grubu

**Tablo 12.** Tc-99m-Moksifloksasin Grubunun Kırık/Normal Kemik ve Enfekte/Sağlam Doku Oranları.

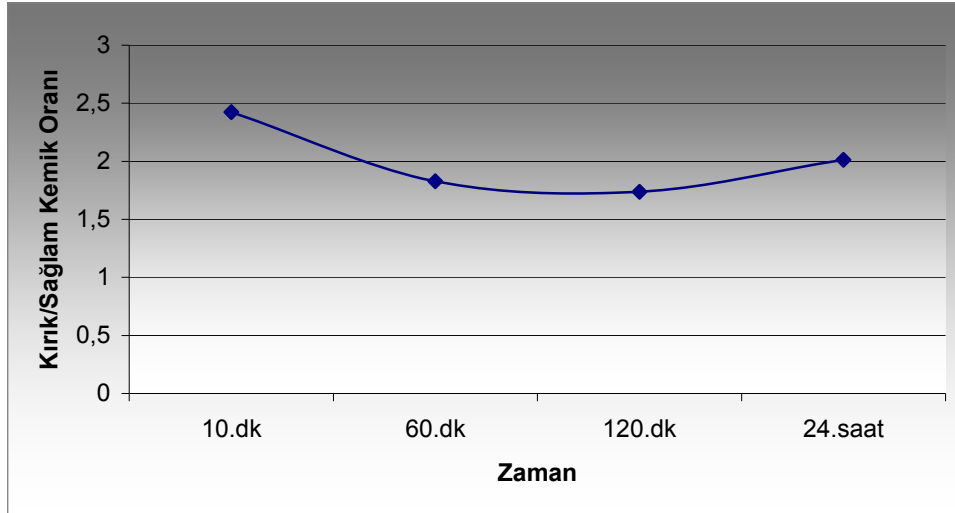
Moksifloksasin Kırık/Sağlam Kemik Sayım Oranı	Enfekte/Sağlam Doku Sayım Oranı			
	10.dk	60.dk	120.dk	24.saad
Rat 1	2.56	2.35	1.13	2.23
Rat 2	2.06	2.08	1.74	1.33
Rat 3	3.85	1.41	1.89	1.70
Rat 4	2.66	1.81	1.91	3.81
Rat 5	2.09	2.13	2.34	1.31
Rat 6	1.33	1.18	1.41	1.72

Tc-99m-Moksifloksasin grubunda; kırık/sağlam kemik oranı en yüksek  $2.42 \pm 0.84$  (min 1.33; maks. 3.85) ortalama ile 10.dk.'da bulundu (Tablo 13, Şekil 28).

**Tablo 13.** Tc-99m-Moksifloksasin Grubu Kırık/Normal Kemik Oranları.

Tc-99m-Moksifloksasin	Ortalama $\pm$ SD	Minimum	Maksimum
10.dk	$2.42 \pm 0.84$	1.33	3.85
60.dk	$1.82 \pm 0.45$	1.18	2.35
120.dk	$1.73 \pm 0.42$	1.13	2.34
24.saad	$2.01 \pm 0.94$	1.31	3.81

**Şekil 28.** Tc-99m-Moksifloksasin Grubu Kırık/Normal Kemik Oranları.

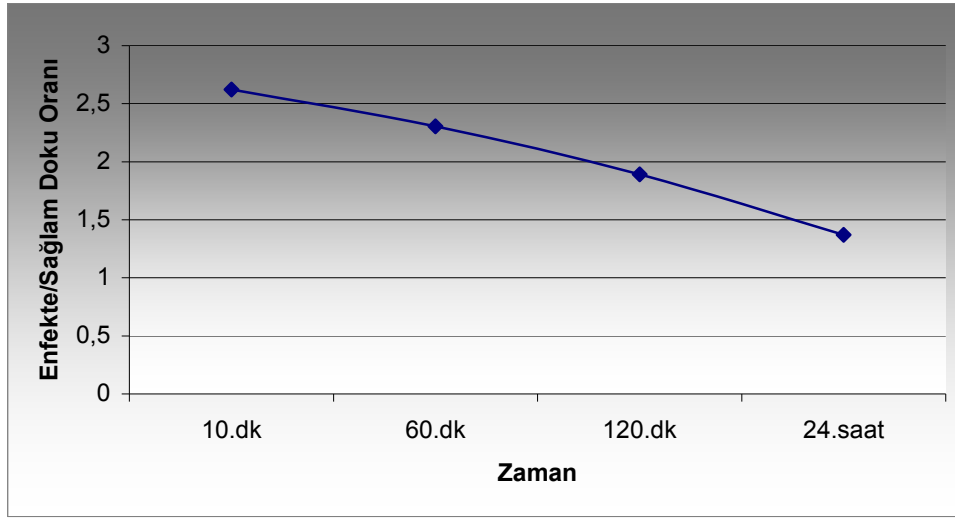


Tc-99m-Moksifloksasin grubunda; enfekte/normal doku oranı en yüksek  $2.62 \pm 0.34$  (min 2.28; maks. 3.10) ortalama ile 10.dk.'da bulundu (Tablo 14, Şekil 29).

**Tablo 14.** Tc-99m-Moksifloksasin Grubu Enfekte Doku/Normal Doku Oranları

Tc-99m-Moksifloksasin	Ortalama±SD	Minimum	Maksimum
10.dk	2.62±0.34	2.28	3.10
60.dk	2.30±0.57	1.61	3.20
120.dk	1.89±0.27	1.57	2.33
24.saat	1.37±0.35	1.08	1.88

**Şekil 29.** Tc-99m-Moksifloksasin grubunun zamana göre enfekte doku/normal doku tutulum oranları.



Tc-99m-Moksifloksasin grubunda; kırık/normal kemik oranı serbest teknesyum grubundan daha yüksek bulundu. Sırasıyla 10.dk'da  $2.42\pm 0.84$ 'ye karşın  $1.88\pm 0.86$ , 60.dk'da  $1.82\pm 0.45$ 'ye karşın  $1.42\pm 0.45$ , 120.dk.'da  $1.73\pm 0.42$ 'e karşın  $1.18\pm 0.14$  ve 24. saatte  $2.01\pm 0.94$ 'e karşın  $1.23\pm 0.58$ . Tc-99m-Moksifloksasin Grubundaki kırık/normal kemik oranları ile Tc-99m grubundaki kırık/normal kemik oranları arasında 120.dk oranı hariç istatistiksel olarak fark yoktu. Sırasıyla 10. dk'da  $P<0.3$ , 60 dk.'da  $P<0.2$ , 120 dk.'da  $P<0.05$ , 24. saatte  $P<0.2$  olarak bulundu (Tablo 15, Şekil 30).

Tc-99m-Moksifloksasin grubunda enfeksiyon/normal doku oranı en yüksek olarak 10. dakikada ortalama  $2.62\pm 0.34$  (min 2.28; maks 3.10) olarak gerçekleşti. Bu 10. dakikadaki T-99m grubunda  $2.28\pm 0.73$  idi. Ancak diğer zaman aralıklarında alınan görüntülerdeki oranlara bakıldığında serbest teknesyum ile

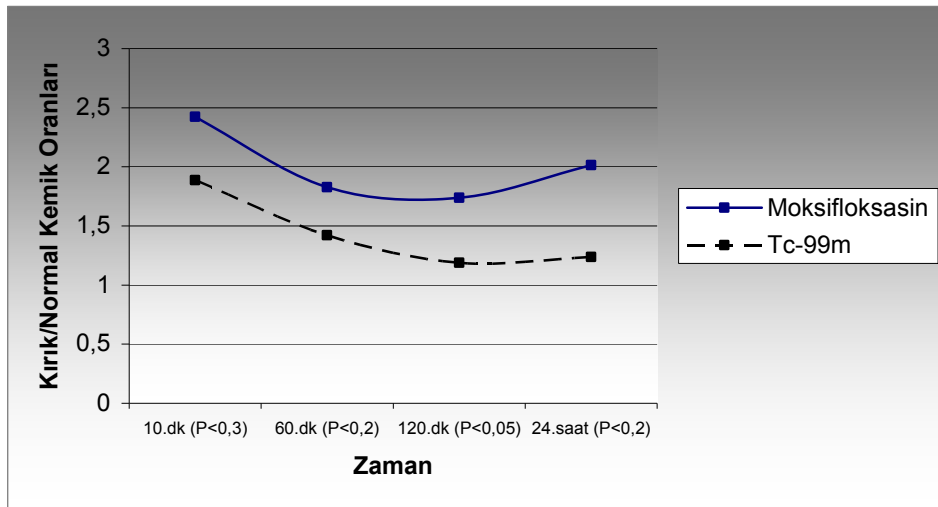
çekilen kontrol görüntülerindeki tutulumların daha fazla olduğu gözlemlendi. Sırasıyla 60.dk 2.76±0.98 ya karşın 2.30±0.57, 120. dk.'da 2.73±0.99'e karşı 1.89±0.27, 24. saatte 1.93±1.58'e karşı 1.37±0.35 olarak bulundu. Tüm zamanların ortalaması ise: 2.04 olarak bulundu.

Tc-99m Grubundaki enfeksiyon/normal doku oranları ile Tc-99m-Moksifloksasin Grubundaki enfeksiyon/normal doku oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı. Sırasıyla 10. dk'da P<0.4, 60 dk.'da P<0.4, 120 dk.'da P<0.1, 24. saatte P<0.4 olarak bulundu (Tablo 15, Şekil 31).

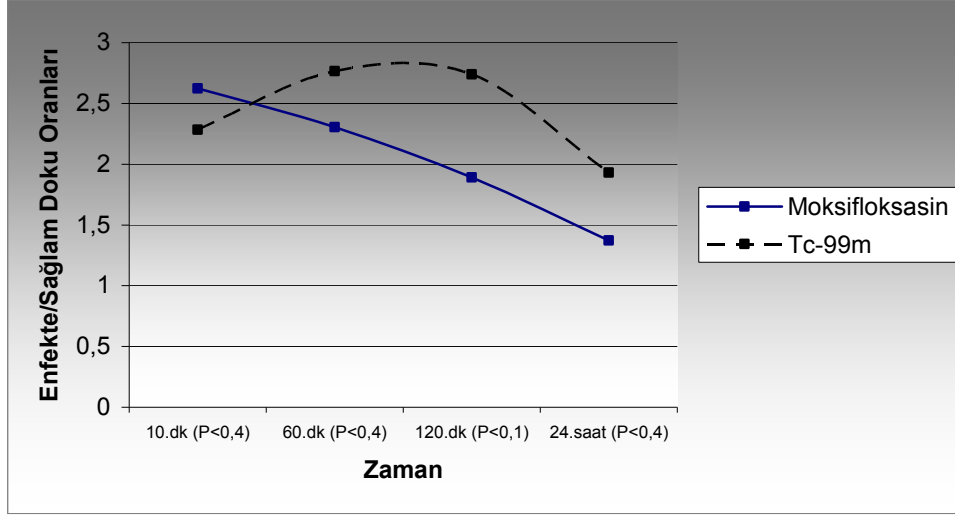
**Tablo 15.** Tc-99m-Moksifloksasin ve Tc-99m gruplarının Enfekte/Sağlam Doku ve Kırık/Normal Kemik oranlarının karşılaştırması.

Zaman	Kırık/Normal Kemik oranları		Enfekte/Sağlam Doku Oranları	
	Tc-99m±SD	Moksifloksasin±SD	Tc-99m±SD	Moksifloksasin ±SD
10.dk	1.88±0.86	2.42±0.84	2.28±0.73	2.62±0.34
60.dk	1.42±0.45	1.82±0.45	2.76±0.98	2.30±0.57
120.dk	1.18±0.14	1.73±0.42	2.73±0.99	1.89±0.27
24.saat	1.23±0.58	2.01±0.94	1.93±1.58	1.37±0.35

**Şekil 30.** Moksifloksasin ve Tc-99m gruplarının kırık/normal kemik oranlarının karşılaştırması.



**Şekil 31.** Moksifloksasin ve Tc-99m gruplarının enfekte/sağlam doku oranlarının karşılaştırması.

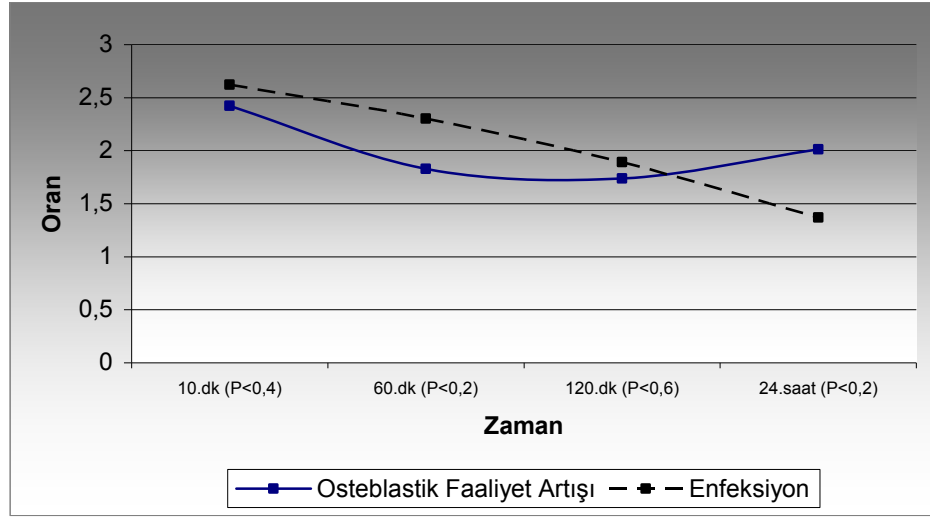


Tc-99m-Moksifloksasinin kırık/normal doku oranı ve enfekte/normal doku oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanamadı. 10.dk'da  $P<0.4$ , 60.dk'da  $P<0.2$ , 120.dk'da  $P<0.6$ , 24.saatte ise  $P<0.2$  olarak bulundu. (Tablo 16, Şekil 32).

**Tablo 16.** Tc-99m-Moksifloksasinin kırık/normal doku oranı ve enfekte/normal doku oranları.

Moks.	Kırık/Normal Kemik Oranları $\pm$ SD	Enfekte/Normal Doku Oranları $\pm$ SD
10.dk	2.42 $\pm$ 0.84	2.62 $\pm$ 0.34
60.dk	1.82 $\pm$ 0.45	2.30 $\pm$ 0.57
120.dk	1.73 $\pm$ 0.42	1.89 $\pm$ 0.27
24.saat	2.01 $\pm$ 0.94	1.37 $\pm$ 0.35

**Şekil 32.** Tc-99m-Moksifloksasinin osteoblastik faaliyet artışı oranı ve enfekte/normal doku oranlarının grafiği.



#### 4.4. Tc-99m-Sefuroksim sodyum grubu

**Tablo 17.** Tc-99m-Sefuroksim Grubunun Kırık/Normal Kemik ve Enfekte/Sağlam Doku Oranları.

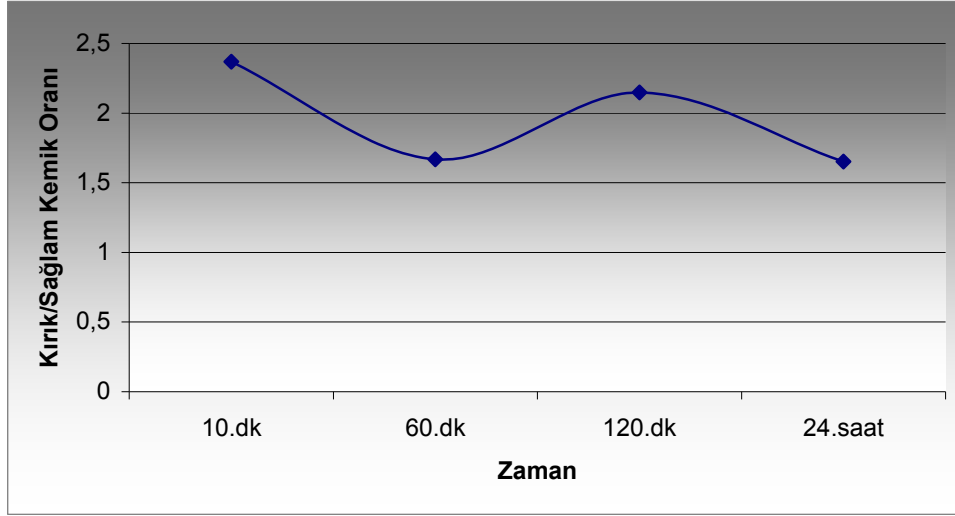
Sefuroksim	Kırık/Sağlam Kemik Sayım Oranı				Enfekte/Sağlam Doku Sayım Oranı			
	10.dk	60.dk	120.dk	24.saat	10.dk	60.dk	120.dk	24.saat
Rat 1	3.13	1.31	1.09	1.14	1.05	1.11	1.31	1.50
Rat 2	2.19	2.42	2.56	0.96	1.19	1.60	1.73	1.11
Rat 3	4.16	1.89	2.08	2.88	1.53	1.59	1.53	1.51
Rat 4	1.33	1.65	1.81	1.00	2.67	1.05	4.92	2.70
Rat 5	1.58	1.13	4.42	2.92	1.29	2.06	1.78	1.53
Rat 6	1.83	1.61	0.94	1.02	1.90	1.93	1.62	1.01

Tc-99m-Sefuroksim grubunda; kırık/sağlam kemik oranı en yüksek  $2.36 \pm 1.07$  (min1.33; maks 4.16) ortalama ile 10.dk.'da bulundu (Tablo 18, Şekil 33).

**Tablo18.** Tc-99m-Sefuroksim Grubu Kırık/Normal Kemik Oranları

Tc-99m-Sefuroksim	Ortalama±SD	Minimum	Maksimum
10.dk	2.36±1.07	1.33	4.16
60.dk	1.66±0.45	1.13	2.42
120.dk	2.14±1.26	0.94	4.42
24.saat	1.65±0.96	0.96	2.92

**Şekil 33.** Tc-99m-Sefuroksim Grubu Kırık/Normal Kemik Oranı

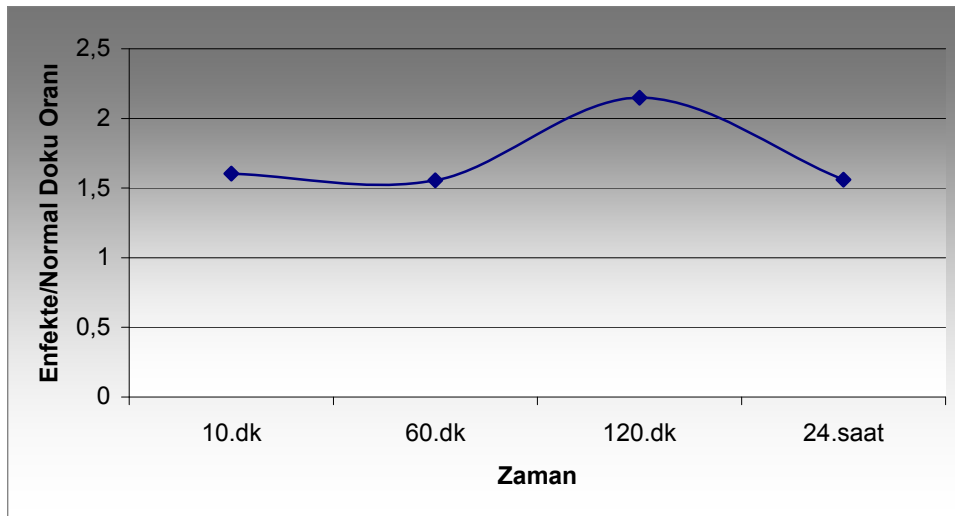


Tc-99m- Sefuroksim grubunda; enfekte/normal doku oranı en yüksek  $2.14 \pm 1.36$  (min 1.31; maks. 4.92) ortalama ile 120.dk.'da bulundu (Tablo 19, Şekil 34).

**Tablo 19.** Tc-99m-Sefuroksim Grubunda Enfekte/Normal Doku Oranı

Tc-99m-Sefuroksim	Ortalama $\pm$ SD	Minimum	Maksimum
10.dk	$1.60 \pm 0.60$	1.05	2.67
60.dk	$1.55 \pm 0.41$	1.05	2.06
120.dk	$2.14 \pm 1.36$	1.31	4.92
24.saat	$1.56 \pm 0.60$	1.01	2.70

**Şekil 34.** Tc-99m Sefuroksim grubunun zamana göre enfekte/normal doku tutulum oranları.



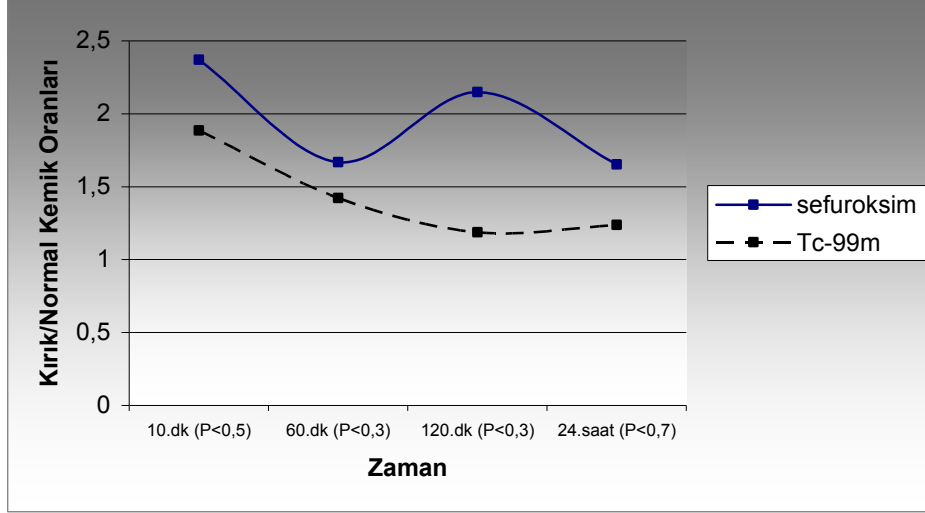
-Tc-99m-Sefuroksim sodyum grubunda; kırık alanı/normal kemik oranı serbest teknesyum grubundan daha yüksek bulundu. Sırasıyla 10.dk'da  $2.36\pm 1.07$ 'ya karşın  $1.88\pm 0.86$ , 60.dk'da  $1.66\pm 0.45$ 'ya karşın  $1.42\pm 0.45$ , 120.dk.'da  $2.14\pm 1.26$ 'e karşın  $1.18\pm 0.14$  ve 24. saatte  $1.65\pm 0.96$ 'e karşın  $1.23\pm 0.58$ . Tc-99m-Sefuroksim Grubundaki kırık/normal kemik oranları ile Tc-99m grubundaki kırık/normal kemik oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı. Sırasıyla 10. dk'da  $P<0.5$ , 60 dk.'da  $P<0.3$ , 120 dk.'da  $P<0.3$ , 24. saatte  $P<0.7$  olarak bulundu (Tablo 20, Şekil 35).

Tc-99m-Sefuroksim sodyum grubunda; enfeksiyon/normal doku oranı en yüksek olarak 120. dakikada  $2.14\pm 1.36$  olarak elde edilmesine rağmen bu Tc-99m grubu ile karşılaştırıldığında ( $2.73\pm 0.99$ ) yine düşük kalmaktadır. Sırasıyla 10.dk'da  $1.60\pm 0.60$ 'a karşın  $2.28\pm 0.73$ , 60.dk'da  $1.55\pm 0.41$ 'e karşın  $2.76\pm 0.98$ , 120.dk.'da  $2.14\pm 1.36$ 'e karşın  $2.73\pm 0.99$  ve 24. saatte  $1.56\pm 0.60$ 'e karşın  $1.93\pm 1.58$ . Tc-99m Grubundaki enfeksiyon/normal doku oranları ile Tc-99m-Sefuroksim sodyum Grubundaki enfeksiyon/normal doku oranları arasında 60. dakika oranı hariç istatistiksel olarak anlam bulunamadı. Sırasıyla 10. dk'da  $P<0.2$ , 60 dk.'da  $P<0.03$ , 120 dk.'da  $P<0.4$ , 24. saatte  $P<0.5$  olarak bulundu. (Tablo 20, Şekil 36).

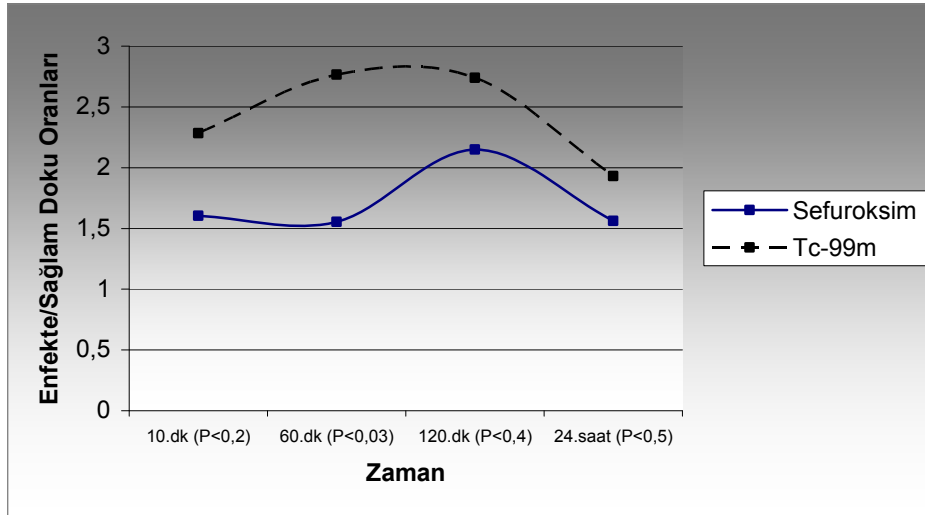
**Tablo 20.** Tc-99m-Sefuroksim ve Tc-99m gruplarının Enfekte/Sağlam Doku ve Kırık/Normal Kemik oranlarının karşılaştırması.

Zaman	Kırık/Normal Kemik oranları		Enfekte/Sağlam Doku Oranları	
	Tc-99m $\pm$ SD	Sefuroksim $\pm$ SD	Tc-99m $\pm$ SD	Sefuroksim $\pm$ SD
10.dk	$1.88\pm 0.86$	$2.36\pm 1.07$	$2.28\pm 0.73$	$1.60\pm 0.60$
60.dk	$1.42\pm 0.45$	$1.66\pm 0.45$	$2.76\pm 0.98$	$1.55\pm 0.41$
120.dk	$1.18\pm 0.14$	$2.14\pm 1.26$	$2.73\pm 0.99$	$2.14\pm 1.36$
24.saat	$1.23\pm 0.58$	$1.65\pm 0.96$	$1.93\pm 1.58$	$1.56\pm 0.60$

**Şekil 35.** Sefuroksim ve Tc-99m gruplarının kırık/normal kemik oranlarının karşılaştırması.



**Şekil 36.** Sefuroksim ve Tc-99m gruplarının enfekte/sağlam doku oranlarının karşılaştırması.

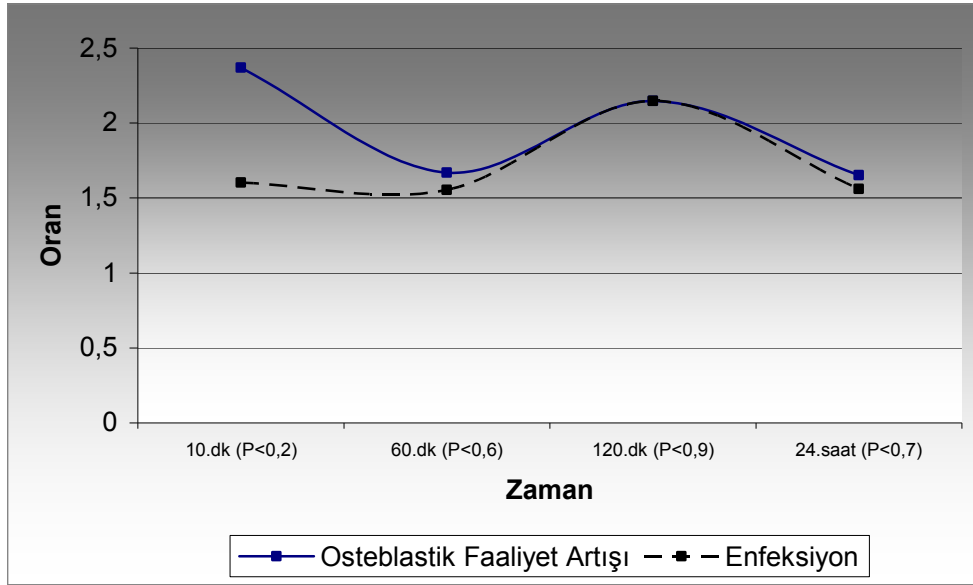


Tc-99m-Sefuroksimin kırık/normal doku oranı ve enfekte/normal doku oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanamadı. 10.dk'da  $P<0.2$ , 60.dk'da  $P<0.6$ , 12.dk'da  $P<0.9$ , 24.saatte ise  $P<0.7$  olarak bulundu (Tablo 21, Şekil 37).

**Tablo 21.** Tc-99m-Sefuroksimin kırık/normal kemik oranı ve enfekte/normal doku oranları.

Sefurok.	Kırık/Normal Kemik Oranları $\pm$ SD	Enfekte/Normal Doku Oranları $\pm$ SD
10.dk	2.36 $\pm$ 1.07	1.60 $\pm$ 0.60
60.dk	1.66 $\pm$ 0.45	1.55 $\pm$ 0.41
120.dk	2.14 $\pm$ 1.26	2.14 $\pm$ 1.36
24.saad	1.65 $\pm$ 0.96	1.56 $\pm$ 0.60

**Şekil 37.** Tc-99m-Sefuroksimin osteoblastik faaliyet artışı oranı ve enfekte/normal doku oranlarının grafiği.



#### 4.5. Tc-99m-Klindamisin grubu

Bu gruptaki ratlardan biri S.Aureus enjeksiyonu sonrası öldü ve çalışmaya 5 rat ile devam edildi.3 rat ise S.Aureus enjeksiyonu sonrası 2. gün içinde öldü ve bu nedenle enjeksiyon sonrası 24. saat görüntüleme yapılamadı.

**Tablo 22.** Tc-99m-Klindamisin Grubunun Kırık/Normal Kemik ve Enfekte/Sağlam Doku Oranları.

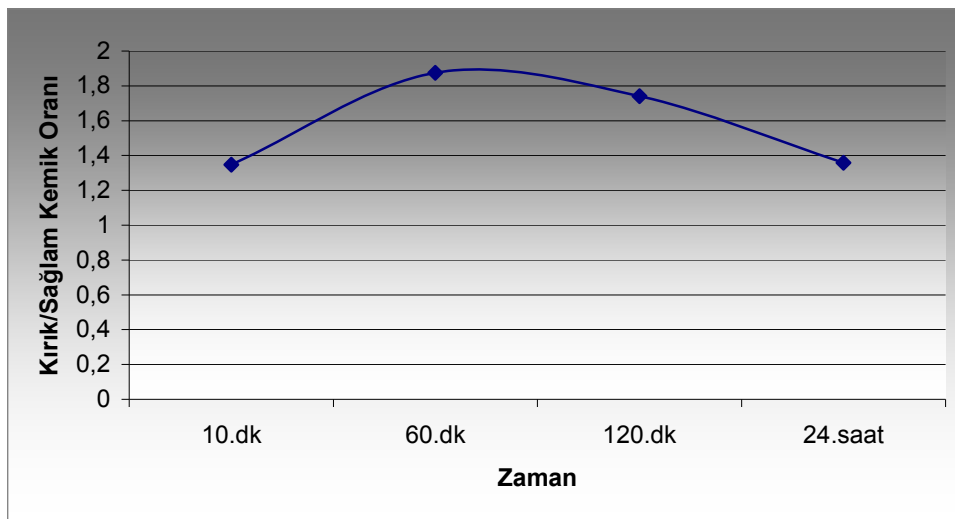
Klindamisin	Kırık/Sağlam Kemik Sayım Oranı				Enfekte/Sağlam Doku Sayım Oranı			
	10.dk	60.dk	120.dk	24.saate	10.dk	60.dk	120.dk	24.saate
Rat 1	1.61	1.17	1.33	EX	1.60	1.60	1.93	EX
Rat 2	1.17	3.33	3.33	EX	3.25	2.15	1.95	EX
Rat 3	1.20	1.43	1.30	EX	2.56	2.29	2.40	EX
Rat 4	1.37	1.58	1.13	1.47	2.14	2.50	1.72	1.37
Rat 5	EX	EX	EX	EX	EX	EX	EX	EX
Rat 6	1.39	1.86	1.61	1.25	2.05	1.67	1.96	1.08

Tc-99m-Klindamisin grubunda; kırık/sağlam kemik oranı en yüksek  $1.87 \pm 0.85$  (min 1.17; maks. 3.33) ortalama ile 60.dk.'da bulundu (Tablo 23, Şekil 38).

**Tablo 23.** Tc-99m-Klindamisin Grubu Kırık/Normal Kemik Oranları

Tc-99m-Klindamisin	Ortalama $\pm$ SD	Minimum	Maksimum
10.dk	$1.34 \pm 0.17$	1.17	1.61
60.dk	$1.87 \pm 0.85$	1.17	3.33
120.dk	$1.74 \pm 0.90$	1.13	3.33
24.saate	$1.35 \pm 0.15$	1.25	1.47

**Şekil 38.** Tc-99m-Klindamisin Grubu Kırık/Normal Kemik Oranı

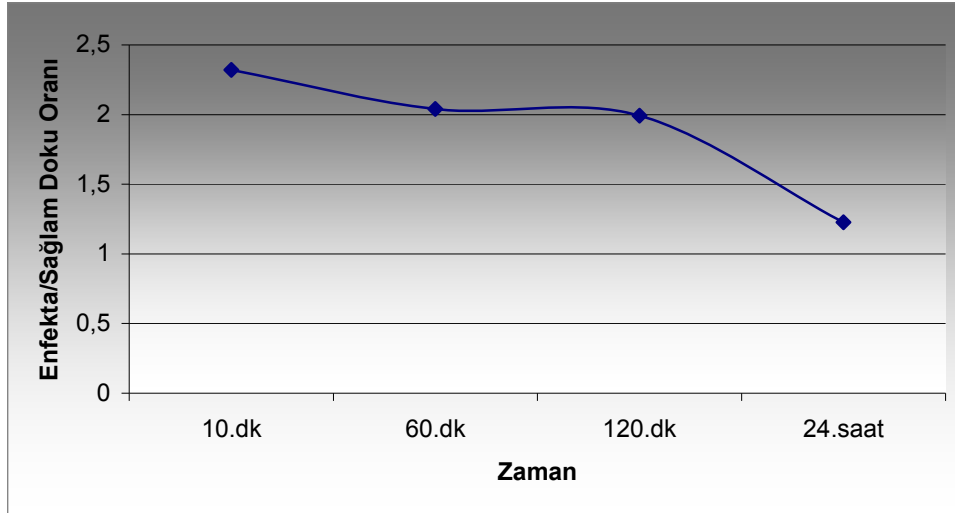


Tc-99m-Klindamisin grubunda; enfekte/normal doku oranı en yüksek  $2.32 \pm 0.62$  (min 1.60; maks. 3.25) ortalama ile 10.dk.'da bulundu (Tablo 24, Şekil 39).

**Tablo 24.** Tc-99m- Klindamisin grubunun zamana göre enfekte/normal doku tutulum oranları.

Tc-99m-Klindamisin	Ortalama $\pm$ SD	Minimum	Maksimum
10.dk	$2.32 \pm 0.62$	1.60	3.25
60.dk	$2.04 \pm 0.39$	1.60	2.50
120.dk	$1.99 \pm 0.25$	1.72	2.40
24.saat	$1.22 \pm 0.20$	1.08	1.37

**Şekil 39.** Tc-99m Klindamisin grubunun zamana göre enfekte/normal doku tutulum oranları.



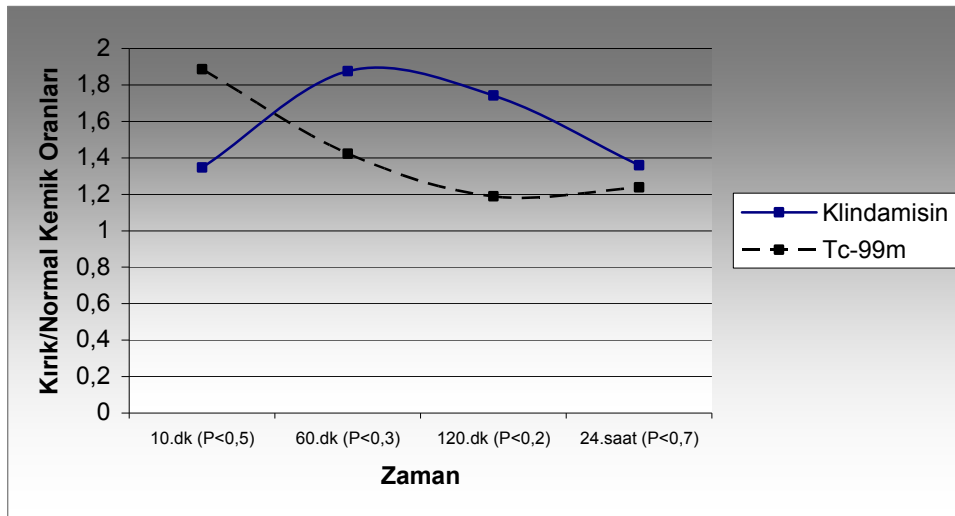
Tc-99m-Klindamisin grubunda; kırık alanı/normal kemik oranı 10. dk. görüntüleri hariç serbest teknesyum grubundan daha yüksek bulundu. Sırasıyla 10.dk'da  $1.34 \pm 0.17$ 'e karşın  $1.88 \pm 0.86$ , 60.dk'da  $1.87 \pm 0.85$ 'ye karşın  $1.42 \pm 0.45$ , 120.dk.'da  $1.74 \pm 0.90$ 'e karşın  $1.18 \pm 0.14$  ve 24. saatte  $1.35 \pm 0.15$ 'e karşın  $1.23 \pm 0.58$ . Tc-99m-Klindamisin Grubundaki kırık/normal kemik oranları ile Tc-99m grubundaki kırık/normal kemik oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı. Sırasıyla 10. dk'da  $P < 0.5$ , 60 dk.'da  $P < 0.3$ , 120 dk.'da  $P < 0.2$ , 24. saatte  $P < 0.7$  olarak bulundu (Tablo 25, Şekil 40).

Tc-99m-Klindamisin grubunda; enfeksiyon/normal doku oranı sadece 10.dk. görüntülerinde Tc-99m grubundan yüksek olarak bulunmuştur. ( $2.32\pm 0.62$ 'ye karşı  $2.28\pm 0.73$ ). Bunun dışındaki görüntülerde Tc-99m Grubundaki tutulumlar daha yüksek bulunmuştur. Sırasıyla 10.dk'da  $2.32\pm 0.62$ 'ye karşı  $2.28\pm 0.73$ , 60.dk'da  $2.04\pm 0.39$ 'e karşı  $2.76\pm 0.98$ , 120.dk.'da  $1.99\pm 0.25$ 'a karşı  $2.73\pm 0.99$  ve 24. saatte  $1.22\pm 0.20$ 'ye karşı  $1.93\pm 1.58$ . Tc-99m Grubundaki enfeksiyon/normal doku oranları ile Tc-99m-Klindamisin Grubundaki enfeksiyon/normal doku oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı. Sırasıyla 10. dk'da  $P<1$ , 60 dk.'da  $P<0.3$ , 120 dk.'da  $P<0.2$ , 24. saatte  $P<0.7$  olarak bulundu. (Tablo 25, Şekil 41).

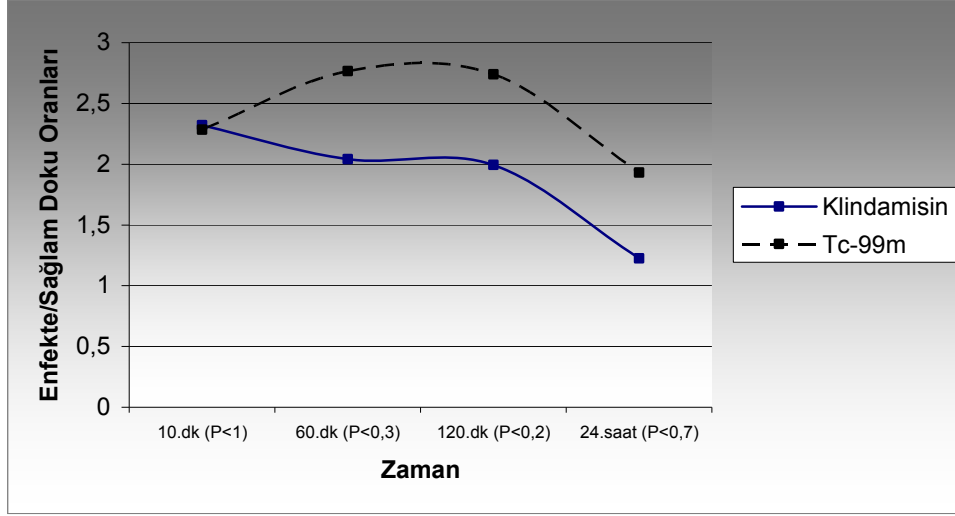
**Tablo 25.** Tc-99m-Klindamisin ve Tc-99m gruplarının Enfekte/Sağlam Doku ve Kırık/Normal Kemik oranlarının karşılaştırması

Zaman	Kırık/Normal Kemik oranları		Enfekte/Sağlam Doku Oranları	
	Tc-99m $\pm$ SD	Klindamisin $\pm$ SD	Tc-99m $\pm$ SD	Klindamisin $\pm$ SD
10.dk	$1.88\pm 0.86$	$1.34\pm 0.17$	$2.28\pm 0.73$	$2.32\pm 0.62$
60.dk	$1.42\pm 0.45$	$1.87\pm 0.85$	$2.76\pm 0.98$	$2.04\pm 0.39$
120.dk	$1.18\pm 0.14$	$1.74\pm 0.90$	$2.73\pm 0.99$	$1.99\pm 0.25$
24.saat	$1.23\pm 0.58$	$1.35\pm 0.15$	$1.93\pm 1.58$	$1.22\pm 0.20$

**Şekil 40.** Klindamisin ve Tc-99m gruplarının kırık/normal kemik oranlarının karşılaştırması.



**Şekil 41.** Klindamisin ve Tc-99m gruplarının enfekte/sağlam doku oranlarının karşılaştırması.

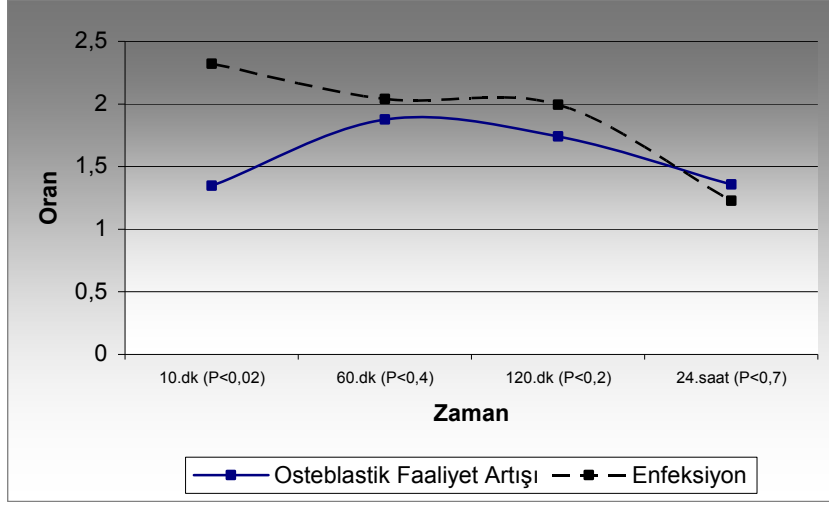


Tc-99m-Klindamisinin kırık/normal doku oranı ve enfekte/normal doku oranları arasında 10. dk. tutulum oranları hariç istatistiksel olarak anlamlı fark saptanamadı. 10.dk'da  $P<0.02$ , 60.dk'da  $P<0.4$ , 120.dk'da  $P<0.2$ , 24.saatte ise  $P<0.7$  olarak bulundu (Tablo 26, Şekil 42).

**Tablo 26.** Tc-99m-Klindamisinin kırık/normal kemik ve enfekte/normal doku oranları.

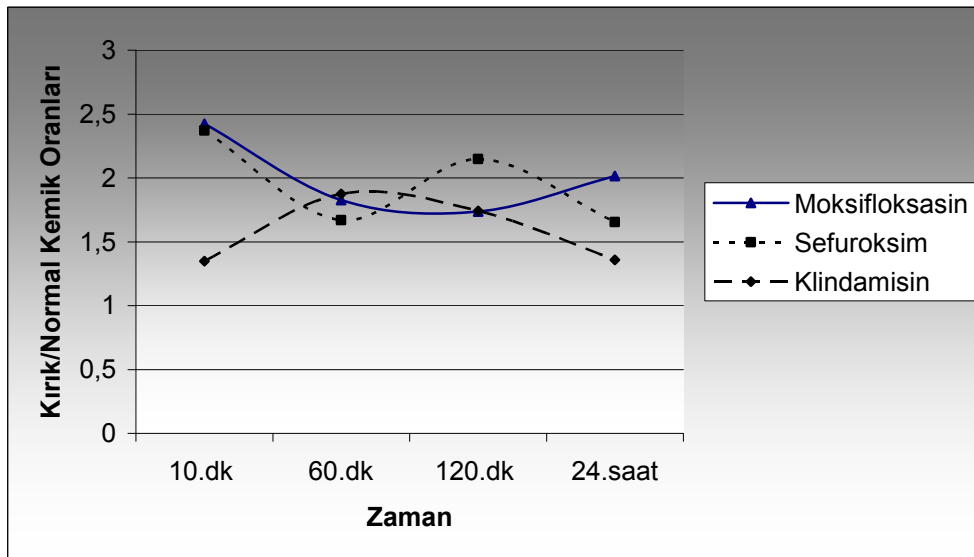
Klin.	Kırık/Normal Kemik Oranları $\pm$ SD	Enfekte/Normal Doku Oranları $\pm$ SD
10.dk	1.34±0.17	2.32±0.62
60.dk	1.87±0.85	2.04±0.39
120.dk	1.74±0.90	1.99±0.25
24.saat	1.35±0.15	1.22±0.20

**Şekil 42.** Tc-99m-Sefuroksimin osteoblastik faaliyet artışı oranı ve enfekte/normal doku oranlarının grafiği.

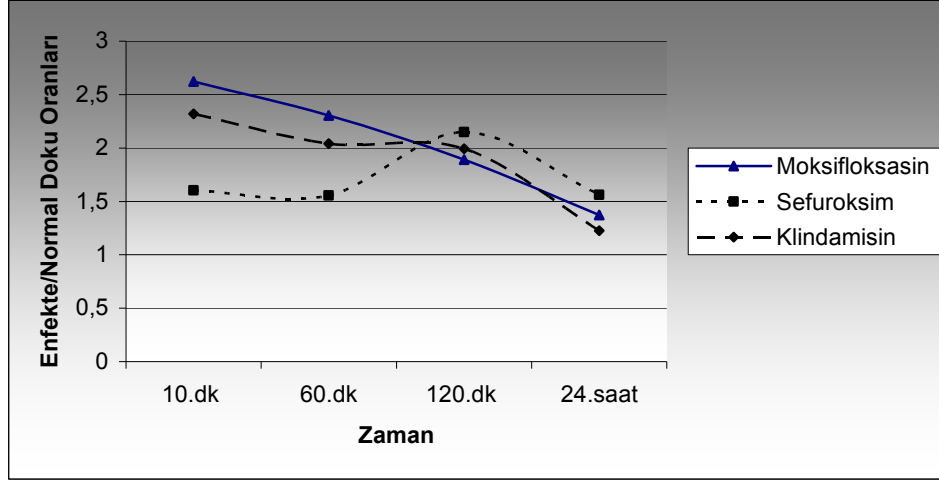


Her üç antibiyotiğin tutulumları karşılaştırıldığında; sadece sefuroksim ve klindamisin enfekte/sağlam dokunun 10. (P<0.02) ve 60.dk (P<0.03) oranları arasında istatistiksel anlamlı fark bulundu. Moksifloksasin ve klindamisin 10.dk'daki kırık/sağlam kemik oranları arasında da istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu (P<0,04) (Şekil 43-44, Tablo 27). Bunun dışındaki diğer zaman dilimlerindeki tutulum oranları arasında istatistiksel olarak fark bulunamadı.

**Şekil 43.** Moksifloksasin, Sefuroksim ve Klindamisin gruplarının kırık/normal kemik oranlarının karşılaştırması.



**Şekil 44.** Moksifloksasin, Sefuroksim ve Klindamisin gruplarının Enfekte/Normal Doku oranlarının karşılaştırması.



**Tablo 27.** Moksifloksasin, Sefuroksim ve Klindamisin gruplarının istatistiksel olarak karşılaştırılması.

	Kırık/Normal Kemik oranları				Enfekte/Normal Doku Oranları			
	10.dk	60.dk	120.dk	24.saat	10.dk	60.dk	120.dk	24.saat
Moksifloksasin ile Sefuroksim	P<1	P<0.6	P<0.9	P<0.3	P<0.02	P<0.03	P<0.4	P<1
Moksifloksasin ile Klindamisin	P<0.04	P<0.8	P<0.5	P<0.3	P<0.4	P<0.5	P<0.6	P<0.9
Sefuroksim ile Klindamisin	P<0.06	P<2	P<0.8	P<0.7	P<0.09	P<0.09	P<0.2	P<0.5

**Tablo 28.** Moksifloksasin, Sefuroksim ve Klindamisin gruplarındaki zamana göre ortalama tutulum oranları.

	Kırık/Normal Kemik oranları				Enfekte/Sağlam Doku Oranları			
	10.dk	60.dk	120.dk	24.saat	10.dk	60.dk	120.dk	24.saat
Moksiflok.	2.42	1.82	1.73	2.01	2.62	2.30	1.89	1.37
Sefuroksim	2.36	1.66	2.14	1.65	1.60	1.55	2.14	1.56
Klindamisin	1.34	1.87	1.74	1.35	2.32	2.04	1.99	1.22

## TARTIŞMA

İnfeksiyon ve inflamasyon tanısının konması hala önemi bir klinik problemdir (21). Enfeksiyon bölgesinin işaretli antibiyotikler ile görüntülenme çalışmaları son zamanlardaki en popüler çalışmalardan birisidir. Bu çalışmaların ortak dayanak noktası steril inflamasyon ve enfeksiyon ayırıcı tanısını yapabilecekleri ön görüsüdür. Mevcut enfeksiyon görüntüleme yöntemleri enfeksiyon bölgesinde tutulum göstermekle birlikte inflamasyon alanında da tutulum gösterdikleri için bu ayrımı yeterince yaptıkları söylenemez. Tc-99m ile bağlı antibiyotikler ile enfeksiyonun görüntülenmesi çalışmalarındaki temel mantık, bakterilerin veya diğer enfeksiyon ajanlarının hücre yapısı içine giren bir radyofarmasötik ile enfeksiyon alanının görüntülenmeye çalışılmasıdır. Antibiyotiklerin etkilerini gösterebilmeleri için enfeksiyon ajanının içerisine girmeleri gerekmektedir. Bu da işaretli antibiyotikler ile “enfeksiyon ajanına spesifik görüntüleme” gibi ciddi bir olaya imkan sağlayarak enfeksiyonun sintigrafik olarak görüntülenmesinde devrim yaratabilir. Bu nedenle enfeksiyonun sintigrafik olarak görüntülenmesinde işaretli antibiyotikler gelecek vaat etmektedir.

Bu amaçla Tc-99m ile ilk bağlanan ve klinik kullanıma giren antibiyotik bir kinolon olan siprofloksasindir (22). Uptake mekanizması muhtemelen canlı bakterilerdeki DNA-giraza bağlanarak akümüledir (23). Birçok pre-klinik çalışma, Tc-99m ile işaretli siprofloksasinin bakteriyel enfeksiyonu göstermede yetersiz olduğunu rapor etmiştir.(24) Enfeksiyon görüntülemeindeki duyarlılık ve özgüllüğü için literatürde farklı sonuçlar mevcuttur. Sönmezoğlu ve ark.'nın 56 kronik ortopedik enfeksiyonlu olgu ile yaptıkları çalışmada; Tc-99m-Siprofloksasin görüntüleme yapılmış ve Tc-99m-HMPAO ile kontrol sintigrafisi çekilmiştir. Bu çalışmada Tc-99m-Siprofloksasinin duyarlılığı %94, özgüllüğü %86; Tc-99m-HMPAO'nun duyarlılığı %63, özgüllüğü ise %96 bulunmuştur. Tc-99m-Siprofloksasinin kronik iskelet sistemi enfeksiyonlarını görüntülemeye etkili ve duyarlı olduğu sonucuna varılmıştır (25). Britton ve ark.'nın osteomyelit, ortopedik protez enfeksiyonu, tüberküloz, yumuşak doku enfeksiyonu, abdominal

enfeksiyon, cerrahi yara, septik artrit ve endokardit olgularını içeren 879 hastada yaptıkları çalışmada Tc-99m-Siprofloksasin ile görüntüleme yapılmıştır. Enfeksiyonun varlığı ise mikrobiyolojik olarak gösterilmiştir. Tc-99m-Siprofloksasinin duyarlılığı %85.5 özgülüğü ise %81.6 olarak bulunmuştur (26). Malamitsi ve ark.'nın şüpheli kemik enfeksiyonu olan 45 hastada yaptıkları çalışmada Tc-99m ile işaretli siprofloksasin görüntüleme yapılmıştır. Enfeksiyonun varlığı diğer geleneksel sintigrafik ve radyolojik yöntemler ile ortaya konmuştur. Tc-99m-Siprofloksasin'in duyarlılığı %97.2, özgülüğü %80 olarak bulunmuştur (27). Odilia ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada; ratların sol tibia medüller kavitesine S. Aureus enjeksiyonu sonrası Tc-99m-Seftizoksım ile görüntüleme yapılmıştır. Hedef/non hedef oranları 2.29 ile 2.73 arasında bulunmuştur (28). Sankha ve arkadaşlarının Tc-99m-Moksifloksasin ile yaptıkları çalışmada; tavşanda 30dk-3 saat zaman aralıklarında enfekte kas/normal doku oranlarını 1.6-1.75 arasında bulmuşlardır. (20). Bizim Tc-99m-Moksifloksasin grubumuzun 1. ve 2. saatteki tutulum oranı ortalaması ile karşılaştırıldığında: sırasıyla 2.3'e karşın onlarda 1.62 ve 1.89'a karşılık 1.74 olduğu görüldü. Bulgularımızın benzer olmasına rağmen bizim çalışmamızdaki tutulumların perteknetat grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı olmadığı sonucuna vardık. Oysa Sankha ve ark. Tc-99m-Moksifloksasin ile S. Aureus enfeksiyonunun görüntülenebileceğinden bahsetmişler. Bizim çalışmamızı onlarınkinden farklı kılan Tc-99m ile yaptığımız kontrol çalışmasıdır. Eğer bizde sadece tutulum oranlarına göre karar verseydik muhtemelen bizim sonuçlarımız da anlamlı olabilirdi. Zira tutulum oranlarımızın ortalaması onlarınkinden yüksekti. Onların çalışmasının kısıtlılığı bir kontrol gruplarının olmamasıdır.

Yurt ve ark. yaptıkları çalışmada Tc-99m ile sefuroksim aksetili bağlamıştır. Kalay klorürün farklı dozlarındaki bağlanma oranları ve Tc-99m-Sefuroksim aksetilin insan plazması eklenen ortamdaki stabilitesi araştırılmıştır. 25µg kalay klorür dozunda, 1-5 mCi Tc-99m ve 0.5mg antibiyotik ile en yüksek bağlanma oranı bulunmuştur. Tc-99m-Sefuroksim aksetilin plazma içerisindeki zamana göre bağlanma oranları 4. saatte %92, 24. saatte ise %78 olarak bulunmuştur (29). Elde ettikleri bulguları bizim çalışmamızla kıyasladığımızda,

bizim çalışmamızda en yüksek bağlanma oranı 15µg kalay klorür dozunda, 10-12 mCi Tc-99m ve 0.5 mg antibiyotik ile %96 olarak gerçekleşti. Plazma örneği ile yaptığımız stabilite çalışmasının sonu ise 4. saatteki bağlanma oranımız %97, 24. saatteki bağlanma oranımız ise %98 bulunmuştur. Bulgularımızın birbirinden farklı olmasının sebebi; Tc-99m ile antibiyotikleri bağlama yöntemlerimizin farklı olmasından kaynaklanabileceği gibi, antibiyotik formlarının farklılığından da kaynaklanabilir. Sefuroksimin aksetil formu oral kullanılan formu, sefuroksimin sodyum tuzu ise parenteral kullanılan formudur. Çalışmamızın hayvan modelinde Tc-99m ile bağladığımız antibiyotiği parentral kullanmayı planladığımız için sefuroksim sodyumu tercih ettik. Tc-99m ile bağladığımız diğer antibiyotikler için mevcut literatürde yeterli ve uygun bilgiye ulaşılamadığı için karşılaştırma da yapılamamıştır.

Bu çalışmada “enfeksiyona özgün görüntüleme” gerekliliğinden yola çıkarak beş adet farklı antibiyotiği Tc-99m ile bağladık. Antibiyotiklerin etki mekanizmalarının farklı olmasına ve bakteriyostatik veya bakterisidal olmalarına dikkat edildi. Antibiyotik seçiminde AG’ler, kinolonlar ve sefalosporinler gibi bakterisidal ve klindamisin gibi bakteriyostatik antibiyotiklerin etkileri değerlendirilmeğe çalışıldı.

Kalite kontrol yöntemlerimizde standart kitlerde uygulanan kalite kontrol yöntemlerini biraz modifiye edip daha görsel hale getirdik. Şöyle ki; standart yöntemlerdeki taşıyıcılar boyut olarak küçük (genelde 8cm boyunda 1cm genişliğinde) Whatman yada ITLC şeritlerdir. Bunlar kite özgü çözücülerde yürütüldükten sonra genellikle ortadan ikiye kesilerek tüp içerisinde ayrı ayrı gamma sayıcılarda sayılırlar (30). Daha sonra sayımlar toplam sayıma oranlanarak bağlanma yüzdeleri hesaplanır. Bizim kullandığımız yöntemde ise 20 cm. boyunda ve 1.5 cm. eninde ince tabaka kromatografi kağıtları kullanıldı. Bu kağıtlara işaretli antibiyotik damlatıldıktan sonra çözücüde yürütüldü ve daha sonra gamma sayıcı yerine gamma kamerada 1 dk.’lık planar görüntüleri alındı. Aktivite alanlarından (damlatma noktası ve ilerleme noktasından) ilgi alanları çizilerek sayımlar elde edildi. Elde edilen sayımlar total sayıma oranlanarak bağlanma yüzdeleri hesaplandı. Bu yöntemin gamma sayıcı kullanılarak yapılan

standart yöntemlere üstünlüğü, radyoaktif kısmın (bağlı ve serbest fraksiyonun) nerede olduğunun tam olarak görüntülenmesidir. Gamma sayacı kullanılarak yapılan yöntemlerde ise serbest kısmın ve bağlı kısmın taşıyıcının her iki ucunda olduğu ön görülerek taşıyıcı ortadan ikiye kesilmekte ve gamma sayıcıda saydırılmaktadır. Oysa taşıyıcı üzerindeki radyofarmasötüğün tam yürümediği veya damlatma yerinde tam kalmadığı durumlarda taşıyıcıyı ortadan kesmek yanlış sonuçların çıkmasına sebep olabilir. Biz aktiviteyi (bağlı ve serbest kısım) net olarak görerek ilgi alanları çizdik ve bağlama yüzdelerini bu şekilde hesapladık.

Bağlı antibiyotiklerin stabiliteilerinin araştırılması sonucunda plazmalı örneklerde 24. saat takiplerine kadar bağlanma oranlarında neredeyse hiç düşme izlenmedi. Oysa serum fizyolojikli örneklerde belli oranlarda bağlanma oranlarında azalma izledik. Bağlanma oranlarının zamanla düşmesini kitteki ayrışma lehine yorumladık. Plazmalı örneklerdeki bağlanma oranlarının yüksek kalmasının muhtemel nedenlerinin şunlar olabileceğini düşündük:

- Plazmadaki tampon sistemleri neticesinde gerçekten kitte ayrışma olmayabilir.
- Antibiyotiklerden ayrışan Tc-99m'in plazma proteinerine bağlanması sonucu olabilir.
- Bizim çalışmamızda kullandığımız antibiyotikler belirli oranlarda plazma proteinerine bağlanmaktadır. Buradan yola çıkarak bu durumun bir sebebinin de işaretli antibiyotiklerin plazma proteinerine bağlanması olabileceğini düşünüyoruz.

Hayvan modelinde ratların seçilmiş olma sebebi diğer laboratuvar hayvanlarına göre enfeksiyona nispeten daha dayanıklı olmalarındandır. Ancak bu hayvanlarla çalışma yaparken enjeksiyon yapmadaki zorluk ve kamera rezolüsyon limitleri göz önüne alınmalıdır. Görüntülenen alanın çok küçük olması nedeniyle görsel değerlendirme yapılmamış sadece kantitatif değerlendirme yapılmıştır.

Çalışmamızdaki Tc-99m-MDP grubunu, hayvanlarda meydana getirilen kapalı kırığın osteoblastik faaliyet artışı yaratıp yaratamadığını değerlendirmek için oluşturduk. Her ne kadar yukarıda bahsedilmese de öncelikle bir ratta kırık yerine anestezi sonrası kemikte törpüleme operasyonu yapıldı ve üç gün beklendi.

Ancak bu şekilde gerek kamera rezolüsyonunun yetersiz kalması, gerek travmanın yetersizliği, gerekse bekleme süresinin kısalığı nedeniyle normal kemiğe göre farklı bir tutulum izlenmedi. Bunun sonucu olarak kapalı kırık oluşturularak ve 8 gün beklenecek şekilde modelleme yapıldı. Cerrahi kırık yerine kapalı kırığı tercih etmemizin sebebi ise: İlk ratta yaptığımız kemik törpüleme operasyonu sonrası hayvanın yarasını kontamine ettiğini gördük. Biz operasyonu ne kadar steril şartlarda yapsak da hayvan yarasını kontamine edeceği için kapalı kırık tercih edildi. Yara yerinde S.Aureus dışında ajanların olması (ki kontaminasyon alanındaki mikroorganizmalar hayvandan hayvana değişebilir) çalışmanın standardını bozacaktı.

Çalışmamızda hayvan modelinde kullanılan işaretli üç antibiyotik de osteoblastik faaliyet artışı alanında ve enfeksiyon alanında değişik oranlarda tutulum gösterdi. İşaretli üç antibiyotikte kırık alanında Tc-99m grubundakilere göre bir miktar fazla tutulum gösterdi, ancak bu tutulum serbest teknesyum ile çekilen kontrol sintigrafileri ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Ayrıca her üç antibiyotiğin kendi içindeki osteoblastik faaliyet artışı ve enfeksiyon alanındaki tutulumları arasında da istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı. Bu bize işaretli üç antibiyotiğin de osteoblastik faaliyet artış alanında enfeksiyon alanındaki tutulum kadar tutulduğunu ve dolayısıyla enfeksiyon/osteoblastik faaliyet artışı ayrımını yapamayacaklarını düşündürdü.

İlginç olan, işaretli üç antibiyotiğin de enfeksiyon bölgedeki tutulum oranlarının serbest teknesyum tutulumundan düşük düzeyde bulunmasıydı. Her ne kadar bu tutulumlar istatistiksel olarak anlamlı olmasa da bu durum aşağıdaki sebeplerden kaynaklanabilir. Her üç antibiyotikte hayvanlarda yoğun karaciğer, dalak ve böbrek tutulumu gözlemlendi. Bu durum antibiyotiklerin eliminasyon ve itrah yollarının karaciğer ve böbreklerden olmasından kaynaklandığı gibi muhtemel molekül yapılarının büyüklüğü nedeniyle retikülo endotelial sistemde (RES) tutulmaları nedeniyle de olabilir. Antibiyotikler içinde enfeksiyon bölgesinde en fazla tutulan 2,04 genel ortalama ile moksifloksasin oldu. Bunu 1,89 ortalama ile klindamisin ve 1,71 ile sefuroksim izledi. Tc-99m ile yapılan kontrol grubuna kıyasla antibiyotik gruplarının enfeksiyon alanında daha az tutulduğu gözlemlendi.

Bunun sebebi antibiyotiklerin farmakodinamik ve farmakokinetik özelliklerinden dolayı enfeksiyon alanında konsantre olmamalarından kaynaklanabilir. Her ne kadar inflamatuvar cevabın fazlaca oluşmaması için enfeksiyon ajanının enjeksiyonundan 24 saat sonra görüntüleme yapıldıysa da; enfeksiyon alanındaki kanlanmanın ve ekstrevasiyonun sağlam dokuya oranla daha fazla olduğu düşünülürse, daha küçük moleküler yapıya sahip olan serbest teknesyumun enfeksiyon alanında bir miktar daha fazla tutuluyor olması belki açıklanabilir. Çalışmamızda özellikle inflamasyonun fazlaca gelişmemesi için enfeksiyon ajanının enjeksiyonundan 24 saat sonra görüntüleme yapıldı. Burada amaç, oluşan kanlanma artışı, ödem ve ekstrevasiyon gibi inflamatuvar cevapların en aza indirilmesiydi. Çünkü enflamasyondan ziyade enfeksiyonun, hatta spesifik enfeksiyonun görüntülenebilirliğini araştırmayı planlamıştık. Bu belki de bizim için bir dezavantaj oluşturdu. Çünkü enflamatuvar cevabın oluşması ve enfeksiyon alanına göç eden PNL'ler molekül olarak büyük olan (en azından serbest teknesyumdan) işaretli antibiyotikleri ve ölü bakterileri fagosite edip inflamatuvar alanda işaretli antibiyotik konsantrasyonunda artışa sebep olabiliyorlardı (filtre gibi kandan gelen Tc-99m ile bağlı antibiyotiği sürekli tutarak). Yine PNL'ler ölmüş veya canlı bakterileri ve dolayısı ile Tc-99m ile bağlı antibiyotiği de fagosite ederek enfeksiyon alanındaki radyofarmasötiği konsantre edebiliyorlardı. Klindamisin gibi PNL'ler, alveolar makroajlar ve apselerde birikim özelliğine sahip antibiyotikler, inflamatuvar yanıt oluştuktan sonraki görüntülemeler de umut verici olabilir. Araştırmadaki karşılaştırmaların standardını bozmamak için klindamisin ile olan görüntülemeleri de enfeksiyon ajanının enjeksiyonundan 24 saat sonra yaptık.

İkinci bir sebep enfeksiyon ajanının cinsi olabilir. S.aures'un seçilme sebebi, osteomyelit ve protez enfeksiyonuna en sık sebep olan patojenlerden birisi olmasıydı. Başka patojenler ile daha farklı tutulum paternleri olabileceği gibi, üçüncü bir sebep olarak enfeksiyon ajanının enfeksiyon alanındaki konsantrasyonu ve enfeksiyonun şiddeti de muhtemelen tutulumu etkileyecektir.

## SONUÇ

Bu çalışmada kullanılan Tc-99m ile işaretli antibiyotiklerin hayvan modelindeki enfeksiyon alanının sağlıklı görüntülenmesine olanak sağlamadığını düşünüyoruz. Çalışmamızda elde ettiğimiz veriler benzer çalışmalar ile karşılaştırıldığında literatürdeki oranlardan pek farklı değildi. Ancak, enfeksiyon odağının, işaretli antibiyotikler ile görüntülenebilmesi için daha fazla çalışma yapılması gerekmektedir. Farklı antibiyotik, farklı enfeksiyon ajanları, farklı enfeksiyon ajanı miktarları ve enfeksiyonun başlangıç süresini de içine alan birçok değişken ile yapılacak farklı çalışmalara ihtiyaç vardır. Yine bu çalışmaların küçük hayvanlardan ziyade daha büyük ve enfeksiyona da dayanıklı laboratuvar hayvanlarında yapılması kamera rezolüsyonunda iyileşme sağlayarak pozitif anlamda daha farklı sonuçların elde edilmesini sağlayabilir.

İşaretlenecek antibiyotiğin; enfeksiyon bölgesinde, inflamatuvar hücreler veya bakteri hücreleri tarafından veya bilinmeyen başka mekanizmalar ile konsantre edilebilen bir özelliğe sahip olmasının bu konuda gelecek vadeden ve işaretlenecek antibiyotik seçiminde dikkat edilmesi gereken en önemli nokta olduğu kanaatini taşımaktayız.

## KAYNAKLAR

- 1- Love C, Palestro CJ. Radionuclide Imaging of Infection. J Nucl Med Technol. 2004;32(2):47-57; quiz 58-9. Review.
- 2-Lorberboym M, Feldbrin Z, Hendel D, Blankenberg FG, Schachter P. The Use of <sup>99m</sup>Tc-Recombinant Human Annexin V Imaging for Differential Diagnosis of Aseptic Loosening and LowGrade Infection in Hip and Knee Prostheses. J Nucl Med. 2009;50(4):534-7. Epub 2009 Mar 16.
- 3-Wegener WA, Alavi A. Diagnostic imaging of musculoskeletal infection. Roentgenography; gallium, indium-labeled white blood cell, gammaglobulin, bone scintigraphy; and MRI. 22: 401-417 Ortho Clin N Am 1991.
- 4- Buscombe JR. The future of infection imaging. Q J Nucl Med Mol Imaging. 2006;50(2):99-103. Review
- 5- Ilse Zolle, Technetium-99m Pharmaceuticals, Chapter:2 Technetium in Medicine, Page:7-9, Springer Berlin Heidelberg 2007.
- 6- Love C, Palestro CJ. Radionuclide imaging of infection. J Nucl Med Technol. 2004 Jun;32(2):47-57; quiz 58-9. Review.
- 7- Tsan MF. Mechanism of gallium-67 accumulation in inflammatory lesions. J Nucl Med. 1985 ;26(1):88-92. Review.
- 8-Hans-Jürgen Biersack. Leonard M. Freeman (Eds.) Clinical Nuclear Medicine Editor: Dr. Ute Heilmann. Chapter-17 Scintigraphic Detection of Infection and Inflammation p348 C.P. Bleeker-Rovers, F.J. Vos, F.H.M. Corstens.
- 9- Fisher DR, Shen S, Meredith RF. MIRD dose estimate report No. 20: radiation absorbed-dose estimates for <sup>111</sup>In- and <sup>90</sup>Y-ibritumomab tiuxetan. J Nucl Med. 2009;50(4):644-52. Epub 2009; 16.

- 10- Love C, Tomas MB, Marwin SE, Pugliese PV, Palestro CJ. Role of nuclear medicine in diagnosis of the infected joint replacement. *Radiographics*. 2001;21(5):1229-38.
- 11- Ak I, Varderele E, Durak B, Gülbaş Z, Basaran N, Stokkel MP, Pauwels EK. Labeling of mixed leukocytes with (99m)Tc-HMPAO causes severe chromosomal aberrations in lymphocytes. *J Nucl Med*. 2002;43(2):203-6.)
- 12- Hughes DK. Nuclear medicine and infection detection: the relative effectiveness of imaging with 111In-oxine-, 99mTc-HMPAO-, and 99mTc-stannous fluoride colloid-labeled leukocytes and with 67Ga-citrate. *J Nucl Med Technol*. 2003;31(4):196-201; quiz 203-4. Review
- 13- Roca M, de Vries EF, Jamar F, Israel O, Signore A. Guidelines for the labelling of leucocytes with 99mTc-HMPAO. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2010; 37(4):835-41.)
- 14- Frederick L. Datz, Frank P. Castronovo, Paul E. Christian, Carol E. Anderson, Kelly Crebs, Kathryn A. Morton, and Donald A. Rauh. Biodistribution and Dosimetry of Indium-111-Polyclonal IgG in Normal Subjects. *J Nucl Med* 1995 36: 2372-2379.
- 15- Datz FL, Anderson CE, Ahluwalia R, Whiting JH, Gabor FV, Morton KA, Christian PE, Crebs K, Neptune M, Rauh DA. The efficacy of indium-111-polyclonal IgG for the detection of infection and inflammation. *J Nucl Med*. 1994;35(1):74-83.
- 16- Frederick L. Datz, Carol E. Anderson, Raj Ahluwalia, John H. Whiting, Frank V. Gabor, Kathryn A. Morton, Paul E. Christian, Kelly Crebs, Maggie Neptune, and Donald A. Rauh. The Efficacy of Indium-111-Polyclonal IgG for the Detection of Infection and Inflammation. *J Nucl Med* 1994 35: 74-83.
- 17- John R. Buscombe, Wim J.G. Oyen, Alison Grant, Roland A.M.J. Claessens, Jos van der Meer, Frans H.M. Corstens, Peter J. Ell, and Robert F. Miller. Indium-

111-Labeled Polyclonal Human Immunoglobulin: Identifying Focal Infection in Patients Positive for Human Immunodeficiency Virus. *J Nucl Med* 1993 34: 1621-1625.

18- Technetium-99m Pharmaceuticals. Editor: Ilse Zolle Chapter: 3 Page: 59-61. Preparation of Technetium-99m Pharmaceuticals. H. Spies and H.-J. Pietzsch

19- Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. S.Oğuz Kayaalp (Editör) 2002 10. Baskı. (s234-288)

20-Chattopadhyay S, Saha Das S, Chandra S, De K, Mishra M, Ranjan Sarkar B, Sinha S, Ganguly S. Synthesis and evaluation of (99m)Tc-moxifloxacin, a potential infection specific imaging agent. *Appl Radiat Isot.* 2010 Feb;68(2):314-6. Epub 2009 Oct 24.

21-Gnanasegaran G, Croasdale J, Buscombe JR. Nuclear Medicine imaging of infection and inflammation Part 3: Clinical applications (Review). *World Journal of Nuclear Medicine*, Volume 4, Number 2, 2005

22-Benitez A, Roca M, Martin-Comin J. Labeling of antibiotics for infection diagnosis. *Q J Nucl Med Mol Imaging.* 2006;50(2):147-52.

23- Singh B, Sunil HV, Sharma S, Prasad V, Kashyap R, Bhattacharya A, Mittal BR, Taneja A, Rai R, Goni VG, Aggarwal S, Gill SS, Bhatnagar A, Singh AK. Efficacy of indigenously developed single vial kit preparation of 99mTc-ciprofloxacin in the detection of bacterial infection: an Indian experience. *Nucl Med Commun.* 2008 Dec;29(12):1123-9.

24-Welling M, Stokkel M, Balter J, Sarda-Mantel L, Meulemans A, Le Guludec D. The many roads to infection imaging. *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* 2008;35(4):848-9

25-Sonmezoglu K, Sonmezoglu M, Halac M, Akgün I, Türkmen C, Onsel C, Kanmaz B, Solanki K, Britton KE, Uslu I. Usefulness of  $^{99m}\text{Tc}$ -ciprofloxacin (infecton) scan in diagnosis of chronic orthopedic infections: comparative study with  $^{99m}\text{Tc}$ -HMPAO leukocyte scintigraphy. *J Nucl Med.* 2001;42(4):567-74.

26-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 ( $^{99m}\text{Tc}$ )ciprofloxacin (Infecton). *J Clin Pathol.* 2002;55(11):817-23.

27-Malamitsi J, Giamarellou H, Kanellakopoulou K, Dounis E, Grecka V, Christakopoulos J, Koratzanis G, Antoniadou A, Panoutsopoulos G, Batsakis C, Proukakis C. Infecton: a  $^{99m}\text{Tc}$ -ciprofloxacin radiopharmaceutical for the detection of bone infection. *Clin Microbiol Infect.* 2003;9(2):101-9.

28- Diniz SO, Rezende CM, Serakides R, Ferreira RL, Ribeiro TG, Martin-Comin J, Cardoso VN. Scintigraphic imaging using technetium- $^{99m}$ -labeled ceftizoxime in an experimental model of acute osteomyelitis in rats. *Nucl Med Commun.* 2008;29(9):830-6.

29- Yurt Lambrecht F, Durkan K, Unak P. Preparation, quality control and stability of  $^{99m}\text{Tc}$ -cefuroxime axetil. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry, Vol. 275, No.1 (2008) 161–164*

30- Taşçı C, Ülker Ö, Ertay MT., Taner S, Soylu A, Berk F, Erdoğan S, Yürekli Y, Aday S, Ünak P. Radyofarmasötikler için kalite kontrol yöntemleri kılavuzu. *Turk J. Nucl Med.* 2003; 12:137-148.