



Klinik Öncesi Çalışmalarda Kullanılan Enfeksiyon Modelleri ve Görüntüleme Teknikleri

Infection Models and Imaging Techniques Used in Preclinical Studies

© Aziz Gültekin¹, © Funda Üstün²

¹Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Nükleer Tıp Anabilim Dalı, Denizli, Türkiye

²Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi, Nükleer Tıp Anabilim Dalı, Edirne, Türkiye

Öz

Enfeksiyon hastalıkları gelişmekte olan ülkelerde ölümlerin birinci nedenidir. Enfeksiyonun fizyopatolojisinin anlaşılması, doğru şekilde tedavi edilmesi ve tedavinin etkinliğinin değerlendirilebilmesi için küçük deney hayvanlarıyla prelinik çalışmalar yapılmaktadır. Bu çalışmalarda oluşturulan çeşitli enfeksiyon modelleri uygun yöntemlerle görüntülenmektedir. Enfeksiyon hastalıkları araştırmalarında moleküler görüntüleme yöntemleri anatomik görüntüleme yöntemleri ile birlikte sıklıkla kullanılmaktadır. Küçük hayvan modellerinin enfeksiyon görüntülemesinde özellikle anatomik ve fonksiyonel görüntülemeyi birlikte sunan hibrid görüntüleme yöntemleri tek foton emisyon bilgisayarlı tomografi/bilgisayarlı tomografi (SPECT/BT), pozitron emisyon tomografi/bilgisayarlı tomografi (PET/BT), PET/manyetik rezonans görüntüleme sıklıkla kullanılmış, bunun yanında, biyoluminesans görüntüleme de kullanılmıştır. Anatomik görüntüleme yöntemleri genellikle enfeksiyona sekonder olarak ortaya çıkan morfolojik değişiklikleri gösterdiğinden, fizyopatolojik süreci izlemede yetersizdir. Son yıllarda gerek görüntüleme teknolojisindeki gelişmeler, gerekse moleküler görüntüleme kullanılan yeni radyoaktif işaretli moleküllerin keşfi, enfeksiyon görüntülemesinde yeni ufuklar açmıştır. Bu gelişmeler ileride etkene yönelik kişiselleştirilmiş tedavileri gündeme getirecek, tedavi süreçleri de görüntüleme yöntemleri ile takip edilebilecektir.

Anahtar Kelimeler: Küçük deney hayvanları görüntüleme, deneysel enfeksiyon modelleri, enfeksiyonda moleküler görüntüleme yöntemleri

Abstract

Infectious diseases are the leading cause of death in developing countries. Preclinical studies are carried out with small experimental animals in order to understand the pathophysiology of the infection, to treat it correctly, and to evaluate the effectiveness of the treatment. In these studies, various infection models are created and displayed by appropriate methods. Molecular imaging methods used in research of infectious diseases, are frequently used together with anatomical imaging methods. Hybrid imaging methods single photon emission computerized tomography/computerized tomography (SPECT/CT), positron emission tomography/computerized tomography (PET/CT), PET/magnetic resonance imaging have been used frequently in small animal models, especially to present anatomical and functional imaging. In addition, bioluminescence imaging was also used. Anatomic imaging modalities are generally insufficient to follow the pathophysiological process as they show morphological changes secondary to infection. Recent advances in imaging technology and the discovery of new radiolabelled molecules used in molecular imaging have opened up new horizons for infection imaging. These developments will bring forth personalized treatments against the infectious agent in the future and the treatment processes can be followed up with imaging methods.

Keywords: Imaging of small experimental animals, experimental models of infection, molecular imaging methods in infection

Yazışma Adresi/Address for Correspondence

Dr. Aziz Gültekin, Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Nükleer Tıp Anabilim Dalı, Denizli, Türkiye

E-posta: agultekin@pau.edu.tr **ORCID ID:** orcid.org/0000-0002-0311-8077

©Telif Hakkı 2019 Türkiye Nükleer Tıp Derneği / Nükleer Tıp Seminerleri, Galenos Yayınevi tarafından yayınlanmıştır.

Giriş

Enfeksiyon hastalıkları gelişmekte olan ülkelerde ölümlerin birinci, dünya çapında ölümlerin önde gelen ikinci nedenidir. Enfeksiyonları etkili bir şekilde tedavi etmek için, patojenik mikroorganizmaların konakçı bağışıklık sistemi ile nasıl etkileştiğinin anlaşılması zorunludur (1,2). Küçük hayvan görüntülemesi, bulaşıcı hastalıkların klinik öncesi çalışmaları için önemli bir araştırma aracı haline gelmiştir. Çünkü bu yöntemler diğer uygulamalara göre noninvazivdir ve hayvanların kendisinin kontrol olarak kullanılması, kullanılacak hayvan sayısını azaltmaktadır. Deney hayvanları ile yapılacak boylamsal (longitudinal) çalışmalar (bir örneklemeden belirlenmiş zaman aralıklarında en az iki defa veri toplayarak yürütülen çalışmalar; nükleer tıptaki geç faz görüntülemeleri); aynı hayvanın seri ve ardışık görüntülenmesine olanak tanınması, değişen fizyolojik ve biyokimyasal parametreleri gözlemlenmesi ve lokalize etme imkanı sağlar. Görüntüleme çalışmalarındaki longitudinal gözlemlenmesi, enfeksiyon hastalıklarında hem tedaviye yanıtın değerlendirilmesini sağlar, hem de hastalıkların insanlardaki morbidite ve mortalitesinin gösterilmesi konusunda önemli bilgiler verir (3). Klinik öncesi araştırmalar içinde enfeksiyon hastalıklarında küçük hayvan görüntüleme çalışmaları hem enfeksiyonun patogenezinin anlaşılması hem de ilaç etkilerinin araştırılması için sıkça kullanılmaktadır. Son yıllarda küçük hayvan modelleri görüntülenmesinde özellikle anatomik ve fonksiyonel görüntülenmeyi birlikte sunan hibrid görüntüleme yöntemleri [tek foton emisyon bilgisayarlı tomografi/bilgisayarlı tomografi (SPECT/BT), pozitron emisyon tomografi/bilgisayarlı tomografi (PET/BT), PET/manyetik rezonans görüntüleme (MRG)] sıklıkla kullanılmış bunun yanında, MRG, biyoluminesans görüntüleme de (BLG) fazlaca kullanılmıştır. Enfekte küçük hayvan modellerinde görüntüleme uygulamalarının geliştirilmesinde, özellikle nükleer tıpta yeni moleküllerin keşfi ve rezolüsyonu daha yüksek küçük hayvan görüntülenmesine imkan tanıyan “mikro” cihazların üretilmesi temel araştırmaların hızla artmasına ve klinik uygulamalara hızla adapte edilmesine imkan tanımaktadır.

Deney Hayvanlarında Oluşturulan Enfeksiyon Modelleri

Hayvan modeli; insanlara ait bir hastalıkta, insana herhangi bir zarar vermeden veya etik bir soruna neden olmadan, hastalığı daha iyi anlamaya, tedavi

yöntemlerini test etmeye yarayan çalışmaların yapıldığı deney hayvanlarında oluşturulan hastalık modelidir. Deney hayvanlarında, enfeksiyon süreçlerinin görüntülenebilmesi için uygun bir hayvanda enfeksiyon modeli oluşturulması gereklidir. Deney hayvanlarıyla çalışmanın evrensel (3R), yerel hukuki ve etik kuralları mevcuttur. Hayvanlarla deneysel çalışma yapabilmek için zorunlu kurslara katılmak ve sertifikaya sahip olmak gerekmektedir. Deney hayvanları ile çalışmanın temel prensipleri, doğru hayvan seçimi, anestezi, kan alma, enjeksiyon yöntemleri ve ilaç uygulama metodları eksiksiz öğrenilmiş olmalıdır. Tasarlanan enfeksiyon modelini oluşturmak için yerel etik kurullarına hayvanlara yapılacak tüm işlemleri basamak basamak yazmak ve izin almak gereklidir. Deney süreçleri çok iyi planlanmalıdır. Özellikle sintigrafik görüntüleme yapılacak modellerde radyoaktif maddelerin yarılanma süresi, görüntüleme süreleri gibi parametreler dikkate alınmalıdır. Mümkünse uygun sayıda hayvanda pilot çalışma yapılmalıdır. Pilot çalışma, deney sırasında karşılaşılabilecek olası aksaklıkları önceden görmemizi ve tedbir almamızı sağlar. Bunun yanında enfekte hayvanların özel barınma koşullarının sağlanması, diğer deney hayvanlarının ve deney içerisinde yer alan personelin mikrobiyolojik kontaminasyonunun önlenmesi, kişisel koruyucu ekipmanların temin edilmesi, görüntüleme cihazlarının kontaminasyonunu önlemek için gerekli koruyucu örtülerin sağlanması gereklidir. Deney sırasında ve tamamlandıktan sonra ortaya çıkan mikrobiyolojik, kimyasal ve radyoaktif atıkların mevzuata uygun şekilde ortadan kaldırılmasına dikkat edilmelidir.

Preklinik çalışmalarda en sık fare, sıçan, tavşan, domuz, köpek ve primatlar kullanılmıştır. Klinik amaçlı üretilmiş cihazlarda fare ve sıçan gibi küçük hayvanların kullanılması çözünürlük ve duyarlılık açısından yetersiz kalacağından büyük hayvanlar tercih edilmelidir. Ancak büyük deney hayvanı kullanılmasının barınma yeri temini, bakım zorlukları ve yüksek maliyet gibi dezavantajları vardır. Eğer küçük hayvanlar kullanılacaksa “mikro” görüntüleme cihazları kullanılmalıdır.

Literatürde çok sayıda hayvan modelinde, çok sayıda enfeksiyon etkeniyle oluşturulmuş modeller mevcuttur. Burada en sık kullanılan bazı modellerin oluşturulma yöntemleri anlatılmıştır.

Deneyel osteomyelit modelleri: Osteomyelit ve yumuşak doku enfeksiyon modelleri en sık kullanılan modellerdendir. Teorik olarak insan bedenini daha iyi taklit edebilmek için koyun, keçi, köpek gibi büyük deney hayvanları tercih edilmelidir. Tavşanlar üzerinde

kronik osteomyelit oluşturabilmek için seçilen kemiğe mikroorganizma inokülasyonundan önce sklerotik maddeler uygulanması ve yabancı cisim yerleştirilmesi gerekmektedir. Tavşan deneklerinin dezavantajları arasında deneklerin küçük olmalarından dolayı bazı cerrahi işlemlerin yapılmasında ortaya çıkan zorluklar ve geniş spektrumlu antibiyotik tedavisine uygun olmamaları sayılabilir (4,5,6).

Lankinen ve ark. sıçanlarda oluşturduğu bir osteomyelit modeli (7): Sıçana anestezi uygulandıktan sonra arka bacaklarından biri tıraşlanarak antiseptik bir solüsyonla sterilize edilmiştir. Steril cerrahi koşullarda diş matkabı yardımıyla tibianın proksimal metafizinde 1 mm çapında kortikal defekt oluşturulmuştur. Lokal kemik iliği serum fizyolojik ile yıkanmış, daha sonra medüller boşluk içine 0,05 mL, %5 sodyum morrhuate enjekte edilmiştir. Bu bölgeye 3×10^8 CFU *Staphylococcus aureus*; (*S. aureus*) inoküle edilmiştir. Kemik yüzeyi balmumu ile kaplanarak cilt antibiyotikli kremlerle pansuman yapılarak dikişle kapatılmıştır. Kontrol hayvanlarına ise tibiada kortikal defekt oluşturulmuş ancak sklerozan madde ve bakteri inokülasyonu yapılmamıştır. Ameliyattan iki hafta sonra Ga-68 ajanları ile PET/BT görüntülemeleri yapılmıştır (7).

Hematojen yolla osteomyelit modelinin oluşturulması: Farelerin vücut savunma sistemleri hakkında pek çok şey bilinmektedir. Osteomyelitin savunma sistemi üzerine etkileri ile ilgili çalışmalarda fare modelleri tercih edilmektedir. Fare modelleri ile osteomyelitin moleküler düzeydeki etkileri araştırılabilir. Wang ve ark. bakteriyemi ile başlayan ve implant enfeksiyonu ile sonuçlanan hematojen bir implant enfeksiyonu incelemek için aseptik cerrahi tekniği kullanarak farelerin sağ femurlarına diz eklemine uzanan bir titanyum Kirschner teli yerleştirmişler, farelere ameliyattan 21 gün sonra intravenöz (i.v.) olarak stabil biyoluminesan özellikte metisiline dirençli *S. aureus* suşu enjekte edilmiştir. İnokülasyondan sonra 0, 3, 7, 14, 21 ve 28. günlerde *in vivo* BLG ile izlenmiş, 3-14. günlerde enfeksiyon BLG ile görselleştirilmiştir (8).

Deneysel osteomyelit oluşturmak için intramedüller yerleştirilmiş yabancı bir cismin veya kemiğin canlılığını etkileyecek bir travmanın uygulanması gereklidir. Deneysel modellerde osteomyelit için en yaygın kullanılan etken *S. aureus*'tur. Deney sırasında kullanılan bakteriler insanda hastalık yapan etken ile benzer olmalıdır. Temel olarak osteomyelit oluşturabilmek için 10^4 - 10^6 CFU *S. aureus* kullanılması yeterlidir. Deneysel enfeksiyon modeli oluşturulurken kullanılacak bakteri tipi; deney modelinde kullanılacak antibiyotiklere hassas

olmalı, özel olarak izole edilmiş bakteri kullanılmalıdır. Bakteriler "World Federations for Culture Collection" a kayıtlı bir merkezden temin edilmelidir. Ülkemizde Ege Üniversitesi, İstanbul Üniversitesi, TÜBİTAK Marmara Araştırma Merkezi ve T.C. Sağlık Bakanlığı Refik Saydam Hıfzısıhha Merkezi'nde bu özelliklerde koleksiyonlar vardır.

S. aureus ile yapılan deneysel modeller dışında Johansson ve ark. tarafından anaerobik bakterilerle de osteomyelit modeli oluşturulabileceği gösterilmiştir (9). Tavşanlar dışında sıçan tibialarında da sklerotik maddeler kullanılarak deneysel osteomyelit modelleri oluşturulmuştur. Oztürk ve ark. sklerozan madde olarak polidokanol kullanarak sıçan tibialarında tekrarlanabilir kronik osteomyelit oluşturmuşlardır (10).

Osteomyelit modellerinde karşılaşılan sorunlardan biri de biyomateryaller üzerine yapışan bakterilerin oluşturduğu biyofilmlerdir. Biyofilm içinde yerleşen bakteri kolonilerinde kullanılan antibiyotiklere karşı direnç gelişir ve bu direnç tedaviyi güçleştirir. Bu durum deney sırasında test edilen tedavi protokolünün etkinliği hakkında yorum yapılmasını güçleştirir. Sklerotik madde enjeksiyonu veya mekanik travma sonrası oluşturulan osteomyelit modelleri erişkinlerde görülen kronik osteomyeliti taklit etmede oldukça başarılıdır. Ancak çocuklarda görülen hematojen osteomyelit çalışmaları için farklı bir model tanımlamak gerekmiştir. Emslie ve Nade tavuklar üzerinde hematojen osteomyelit modeli tanımlamışlardır. Tavuklara kanat venlerinden yapılan *S. aureus* inokülasyonundan sonra tavukların %96'sında hematojen osteomyelit oluşturabilmişler bu yolla hematojen osteomyelitin doğal seyrini takip etmişlerdir (11).

Deneysel septik artrit modeli: Uzun yıllar deneysel septik artrit oluşturmak için eklem içerisine patojen bakterinin enjeksiyonunun yeterli olacağı düşünülürdü. Ancak gerçekte, açık eklem yaralanmaları ile oluşan septik artritler dışında insanda görülen septik artritler hematojen olarak yayılan bakteriler ile oluşur. Bremell ve ark. sıçanlara kuyruk damarlarından *S. aureus* enjekte etmişler ve hematojen yolla artrit ve osteit oluştuğunu gözlemişlerdir (12). Başka bir modelde Tissi ve ark. tip IV *Streptokokkus agalactiae* kullanarak sıçanlarda deneysel septik artrit modeli oluşturmuştur (13).

Protez enfeksiyon modelleri: Protez enfeksiyon modelleri aslında yabancı cisim varlığında oluşan enfeksiyonlar olarak kabul edilmelidir. Deney tasarlanırken protez yapımında kullanılan yüzey ve materyal özelliklerine ve kemik enfeksiyonu tiplerine odaklanılmalıdır. Tasarlanan çalışmanın özelliklerine

göre farklı implant biçimleri tercih edilebilir. Metal kablo, vida, silindir, doku kafesleri, plak, intramedüller çivi veya doğrudan protez şeklinde tasarımlar kullanılabilir. İmplant yüzeyi parlak yüzeyli olabileceği gibi poroz kaplı olarak da tasarlanabilir. Çimentosuz protez yüzeyini taklit edebilmek için silindir şeklinde tasarlanmış kafes yapılar kullanılabilir (14). Deney tasarlanırken kullanılacak protezler ile tercih edilecek görüntüleme yönteminin uyumlu olması gerekir. Metalik protezler MRG ve BT'de artefaktlara neden olur. *In vitro* ve *in vivo* çalışmalar belli organizmaların biyomateryallere afinitelerinin olduğunu göstermiştir. *S. Aureus*'un metalik implantlara ve *S. epidermis*'in polimer varlığına afinitesi vardır [Poliyeten astarlar, polimetil metakrilat (PMMA)]. Titanyum ve benzer alaşımlar implant etrafında daha az fibröz reaksiyon oluşturur (15).

Akut pyelonefrit modeli: Prosedür cerrahi asepsi koşullarına uygun olarak yapılır. Anestezi uygulanmış sıçanlar sağ yan yüzü yukarı bakacak şekilde, sol lateral dekübitus pozisyonunda sıcak bir ısıtma yatağına yerleştirilir. 2-3 cm kesi yaparak sağ retroperitoneal insizyon yapılır, böbrek açığa çıkarılır. Böbrek pelvisinin içine yavaş ve sabit 0,1 mL UT189 *E. coli* çözeltisi (konsantrasyon aralığı: 10^8 - 10^9) steril bir şırıngadan enjekte edilir. Hedef dışı enfeksiyonlara ve/veya komplikasyonlara neden olan çevre dokuları delmemeye veya enfekte etmemeye dikkat edilmelidir. Böbrek serum fizyolojikle yıkanır, karın boşluğuna yerleştirilerek sütürle kapatılır. Bu çalışmada enfeksiyondan sonraki 1. ve 4. günde MRG yapılmıştır (16).

Majd ve ark. domuz yavrularında cerrahi olarak üreterovezikal bileşkedeki intramural ureteri serbestleştirerek bilateral veziköureteral reflü oluşturmuşlardır. Cerrahi iyileşme için postop. 5 gün antibiyotik profilaksisi uygulamışlar, daha sonra enfeksiyon oluşturmak için mesanenin içine *E. coli* ve enfeksiyonun devamlılığını sağlamak için yabancı cisim görevi görmesi için parafin enjekte etmişlerdir. 3 gün sonra Tc-99m-DMSA/SPECT, spiral BT, MRG ve Doppler ultrasonography ile görüntüleme yapmışlardır (17).

Yumuşak doku enfeksiyonu: Bu model sıçan, fare ve tavşanlarda oluşturulabilir. Hayvanın bir ekstremitesine *S. aureus*, *E. coli*, *K. pneumoniae* ve *C. albicans* gibi bakteri veya mantar suşlarından biri enjekte edilir. Kontrol olarak karşı ekstremiteye zymosan veya turpentine gibi steril enflamasyon yapan ajanlar enjekte edilir. Dört saat sonra enfekte ekstremitede abse oluşur. Tavşanda *S. aureus* uygun değildir. Çünkü hızla sepsis ve ölüme

sebepler olur. Tavşanda *E. coli* daha uygundur. 0-4-8-20. saatlerde I-123-interleukin I-B ile görüntüleme yapılarak enfekte ekstremitede giderek artan aktivite yoğunluğu saptanır. Ga-68-sitrat ve F-18-FDG de bu modellerin görüntülemesinde kullanılmıştır (18,19).

Akut ve subakut endokardit: Bu model tavşanlar, köpekler ve benzer şekilde sıçanlarda indüklenebilir. Genel anestezi altında, sağ veya sol karotis arter distal ucundan bağlanır. Bir kanülle sol ventrikül kateterize edilir. Kateter bir süre (1 saat-2 gün) yerinde bırakılır. Daha sonra bakteri veya mantar damardan veya doğrudan intrakardiyak olarak enjekte edilir. Akut endokardit kolayca indüklense de klinik olarak subakut endokarditin tavşanlarda elde edilmesi daha zordur ve uzun süreli enfeksiyonda septik komplikasyonlarla ölümler yaşanır. Patojen olarak sıklıkla *S. aureus* kullanılır. Görüntüleme için, ekokardiyografi, SPECT/BT (işaretli lökosit sintigrafisi), PET/BT (F-18-FDG) kullanılır. Ayrıca MRG ve kontrastlı BT diğer kullanılabilir görüntüleme yöntemleridir (20).

Tavşanlarda infektif endokardit modeli oluşturulması: Tavşanlara anestezi uygulandıktan sonra sol karotis arteri cerrahi olarak ortaya çıkarılır. Valf hasarına neden olmak ve vejetasyon oluşturmak için bir kateter sol karotid arter yoluyla 2 saat boyunca aort kapağı üzerine yerleştirilir. Kateter daha sonra çıkarılarak, sol karotis arteri bağlanır ve insizyon dikişlerle kapatılır. Ameliyattan sonra tavşanlara i.v. olarak 2 mL *Enterococcus faecalis* uygulanır. Yaklaşık 72 saat sonra modelden görüntüleme yapılır (21).

Akut apandisit modeli: Tavşanlar bu model için uygundur. Anestezi uygulamasından sonra steril cerrahi koşullarda laparotomi yapılır. Appendiks, damar yapılarına zarar verilmeden proksimalden sütür ipliği ile lümeni obstrükte olacak şekilde bağlanır. Batın tekrar dikilerek kapatılır. On iki saat sonra akut apandisit modeli gelişir (22). Bazı çalışmalarda lümen içine bakteri enjeksiyonu da yapılmıştır. Enfeksiyon, enflamasyon görüntüleme yöntemleri ile erken dönemde görüntüleme yapılır.

Preklinik Enfeksiyon Modellerinde Kullanılan Nükleer Tıp Yöntemleri

Fonksiyonel ve metabolik görüntüleme tekniklerinin çoğu anatomik değişiklikler oluşmadan hastalığın tespit edilmesine olanak sağlar. Nükleer tıp görüntüleme yöntemleri noninvaziv özellikte olup tüm vücut görüntüleme olanağı sayesinde enfeksiyöz odaklarının lokalizasyonunu ve dağılımını tespit etmektedir.

Enflamatuvar yanıtın farklı aşamalarını gösteren çok çeşitli görüntüleme yöntemleri geliştirilmiştir. Klinik öncesi ve klinik çalışmalarda enfeksiyon odağının tespit edilmesinde potansiyel diagnostik maddeler olarak bir çok radyofarmasötik üzerinde çalışılmıştır. Bununla birlikte, bu konuda araştırılan bir çok görüntüleme ajanından klinik uygulamada sadece birkaçı kendine yer bulabilmiştir (23). Nükleer tıp görüntüleme yöntemleri yaklaşık elli yıldır enfeksiyon hastalıklarının tanısında kullanılmıştır (24). Aynı anda morfolojik değerlendirmeye de olanak tanıyan hibrid görüntüleme cihazlarının geliştirilmesi nükleer tıp yöntemlerinin tanısallık doğruluğunun artmasına ve kullanımının yaygınlaşmasına neden olmuştur (25).

SPECT Görüntüleme

SPECT, fizyolojik mekanizmaların görselleştirilmesini, kan dolaşımının ölçülmesini ve radyoizotoplarla işaretlenmiş hücre ve moleküllerin dağılımının incelenmesini sağlar. SPECT, BT ile kombine edilerek anatomik detay hakkında da fikir edinilebilir. Ancak uzun süreli çalışmaları planlarken görüntüleme kaynaklanan radyasyonun oluşturacağı biyolojik değişiklikler göz ardı edilmemelidir. Enfeksiyon görüntüleme birçok farklı izotop kullanılmaktadır.

Tc-99m ile işaretli bisfosfonatlar kullanılarak yapılan kemik sintigrafisi: Yumuşak doku enfeksiyonları ve kemik enfeksiyonlarını değerlendirmek ve birbirinden ayırıcı tanısını yapmak için kullanılır. Yumuşak doku enfeksiyonunda yalnızca birinci ve ikinci fazda aktivite tutulumu olması yumuşak doku enfeksiyonunu gösterir. Geç fazda da (kemik fazı) aktivite tutulumunun olması osteomyeliti gösterir. Kemik sintigrafisi kemik patolojilerini göstermede duyarlıdır, ancak enfeksiyona spesifik değildir. Kemik sintigrafisinin özgüllüğü işaretli lökosit sintigrafileri ve antimikrobiyal peptid görüntüleme çalışmalarıyla kombine edilerek artırılmıştır (26).

Ga-67 sitrat: Ga-67 sitrat geçmiş yıllarda enfeksiyon görüntülemesinde kullanılmıştır. Enfeksiyon/enflamasyonda kullanılan Ga-67 sitrat, enfeksiyon bölgesindeki vasküler epitelden sızarak abse sıvısı ve nötrofillerde çok miktarda bulunan laktoferrine yüksek afinite ile bağlanır. Ga-67 sitrat, demire benzer şekilde sideroforlara da yoğun bağlanma gösterir. Ga-67 sitrat enfekte dokularda mikroorganizmalar tarafından üretilen sideroforlar tarafından tıpkı demirmiş gibi alınır ve hücre içine taşınır (22). Ga-67'nin yüksek gama enerjisi, uzun yarı ömrü, hastalarda yüksek radyasyon maruziyetine

sebeplendir, enjeksiyondan sonra uzun görüntüleme sürelerine ihtiyaç vardır. Bu dezavantajları nedeniyle artık kullanılmamaktadır.

Tc-99m HMPAO veya In-111 oxine işaretli lökosit SPECT: Enfeksiyon bölgelerinde lökositlerin birikmesi esasına dayanan bu iki yöntemden Tc-99m-HMPAO, In-111-oxin'e göre daha sık kullanılmaktadır. Bugünkü görüntüleme yöntemi enfeksiyon görüntüleme için spesifiktir. Ancak hayvan çalışmalarında kullanımı çok azdır. Bunun sebebi, yöntem için oldukça fazla kan örneğine ihtiyaç vardır, bu küçük deney hayvanlarında neredeyse imkansızdır. Lökosit etiketleme prosedürü oldukça zahmetli ve zaman alıcıdır. Ayrıca, prosedür kan ürünlerinin manipülasyonu ve yeniden enjeksiyonunu gerektirir ve yüksek bulaşıcı hastalık riski taşır. Görüntülere SPECT/BT'nin eklenmesi ve geç görüntülerinde alınması tanı doğruluğunu artırır.

Antigranülosit monoklonal antikor sintigrafisi: Lökosit SPECT'e alternatif bir yöntem olarak geliştirilmiştir. Lökosit SPECT'e avantajı kan ürünleriyle manipülasyon gerektirmemektir. Kullanımı sırasında ortaya çıkan yan etkiler ve muhtemelen maliyetler nedeniyle piyasadan çekilmiştir.

Tc-99m ile işaretli antibiyotikler: Antibiyotiklerin spesifik mekanizmalar kullanarak enfeksiyon odağında bulunan bakteriler ile birleşip metabolize olmaları konusu enfeksiyon görüntüleme çalışmalarında geniş yer almıştır. Siprofloksazin, sülfonamidler, vankomisin, beta-laktam bazlı ajanlar, aminoglikozidler, doksisisiklin, linkozamidler, nitrofuran, rifampisin Tc-99m ile işaretlenebilmiştir. Siprofloksazin dışındakilerin hepsi henüz prelinik düzeyde çalışılmıştır (27).

PET Görüntüleme

PET biyolojik süreçleri görselleştirmek için kullanılan oldukça hassas (pmol/L) moleküler görüntüleme yöntemidir. Mikro-PET çözünürlüğü (1-2 mm) BT veya MRG kadar yüksek değildir, ancak küçük hayvan görüntüleme için yeterlidir. BT ve MRG ile hibrid cihazlar PET'in etkinliğini ve kullanımını artırmıştır. Radyofarmasötik olarak en sık F-18 deoksi floro glukoz (F-18-FDG) kullanılır.

F-18 FDG-PET/BT: F-18 FDG/PET'nin SPECT ajanlarına göre pek çok avantajı vardır. Bu avantajlar, hastanın kanıyla işlem yapılmasına gereksinim duymaması, kısa görüntüleme süreleri, yüksek çözünürlük, semi kantitatif analiz yapılabilmesi nedeniyle enfeksiyon/enfeksiyöz patolojileri ayırt edebilmesi ve tedavi yanıtının değerlendirilebilmesine olanak tanınmasıdır

(28). F-18 FDG, yaygın olarak onkolojik görüntülemelerde kullanılmıştır. Son on yılda enflamatuvar süreçleri göstermek için daha fazla kullanılmaktadır. F-18 FDG'nin enfeksiyon görüntülemesinde en büyük dezavantajı spesifik olmamasıdır.

F-18 FDG-işaretli lökositlerle PET/BT: Enfeksiyon görüntülemesinde FDG'ye oranla daha spesifik bir PET ajanı geliştirmedeki ilk girişim otolog lökositlerin *in vitro* olarak işaretlenmesi yöntemidir. Ancak bu yöntemin en önemli dezavantajı lökosit işaretlemesinin yapıldığı ortamdaki glukoz konsantrasyonu ile bağlanma yüzdesi dramatik olarak değişmektedir. Kan ürünleriyle çalışmanın getirdiği dezavantajlar ve F-18 FDG'nin kısa yarı ömrünün geç görüntülemeye olanak tanımaması bu tetkikin klinik rutine girmesini zorlaştırmıştır. Pellegrino ve ark. FDG işaretli lökosit ve FDG'ye ait tutulumları kemirgenlerde steril terebentin ile oluşturulan akut enflamasyon, *E. coli* ve *Pseudomonas aeruginosa* ile oluşturulan bakteriyel enfeksiyon modelinde karşılaştırmışlardır. Her iki radyofarmasötüğün tutulumu da enfekte kas dokusunda enfekte olmayana oranla belirgin artmış olarak bulunmuştur. Ortalama enfekte kas/enfekte olmayan kas tutulum oranı FDG işaretli lökosit ile FDG'ye oranla yaklaşık iki kat daha yüksek bulunmuştur. Ayrıca işaretli lökositlerin enflame dokuyu normal dokudan ayırmada FDG'ye oranla daha üstün olduğu gösterilmiştir. Araştırmacılar; enflamasyon alanındaki FDG işaretli lökosit akümülyasyonunun sadece lökositlerden salınan serbest FDG'ye bağlı olmadığı sonucuna varmışlardır (29). Pio ve ark. FDG işaretli lökositler ile FDG'yi insan ve fare modelinde karşılaştırmışlar ve bu iki radyofarmasötüğün normal dağılım paterninin farklı olduğu sonucunu bulmuşlardır (30).

Cu-64-ile işaretlenmiş lökositler: Enfeksiyon görüntülemesinde geç görüntülemeye ihtiyaç duyulması, araştırmacıları daha uzun ömürlü PET radyofarmasötiklerine yöneltmiştir. Cu-64'nun 12,7 saatlik yarı ömrü nedeniyle Cu-64 etiketli lökosit PET/BT ile yapılabileceği düşünülmüştür. Bhargava ve ark. insan lökositlerini Cu-64 ile *in vitro* olarak işaretlemişler ve işaretleme etkinliğini, hücre canlılığını ve bakır işaretli lökositlerin stabilitesini In-111 işaretli ve FDG işaretli lökositlerle karşılaştırmışlardır. Cu-64 işaretli lökositlerin ortalama işaretleme etkinliği (%87±4) ile In-111 işaretli lökositler (%86±4) ile benzer ve her ikisinin de işaretleme etkinliği FDG işaretli lökositlere (%60±19) oranla anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur (31).

Locke ve ark. bu ajanı *Klebsiella pnömoni* ile oluşturulan sıçan pnömoni modelinde çalışmışlar ve işaretli peptidin enjeksiyonundan yaklaşık 18 saat sonra görüntüleme yapmışlardır. *Klebsiella pnömoni* ile enfekte farelerde ortalama akciğer standart uptake değeri değeri $0,142 \pm 0,054$ iken bu değer kontrol grubunda $0,028 \pm 0,003$ olarak bulunmuştur. Preklinik veriler umut verici olsa da bu ajan ile yapılmış insan çalışması bulunmamaktadır (32).

Ga-68-Sitrat PET/BT: Ga-67-sitrat'ın dezavantajlarından dolayı kullanımının kısıtlanması nedeniyle analog bir molekül olan aynı zamanda PET/BT cihazlarında görüntülemeye olanak tanıyan Ga-68-sitrat üzerine araştırmalar yoğunlaşmıştır. Ancak Ga-68-sitrat da enfeksiyona spesifik değildir. Malignite ve diğer enflamatuvar süreçlerde tutulum gösterir. Ga-68'in Ge-68/Ga-68-jeneratörlerinden nükleer tıp bölümlerinde kolayca elde edilebilir olması Ga-68'in ve ona bağlanabilen farmasötiklerin yüksek bir gelişim potansiyeline sahip olduğunu göstermektedir (33).

Kumar ve ark. sıçanlarda *Staphylococcus aureus* enfeksiyonlarını saptamada Ga-68-sitratın tanısız rolünü araştırmışlardır. Enjeksiyondan sonraki 5. dakikada içerisinde ortalama bir radyofarmasötik tutulumu gözlenmiş; 30 dakika ile 6 saat içerisinde ise tutulum yoğun ve fokal hale gelmiştir. Ayrıca postoperatif intraabdominal enfeksiyonu olan bir hastada enjeksiyon sonrasında 30. dakikada enfeksiyon odağını görüntülemişlerdir (34).

Ga-68 DOTAVAP-P1: Ga-68-sitratın nonspesifik olması araştırmacıları daha spesifik moleküllere yöneltmiştir. Vasküler adezyon protein-1 (VAP-1) enflamatuvar durumlarda hücre yüzeyinden eksprese edilen bir yüzey proteindir. Araştırmacılar, enfekte olmayıp yalnızca iyileşmekte olan kortikal kemik defekti bulunan, diğer grupta ise *S. aureus* osteomyeliti olan toplam 68 farede Ga-68-DOTAVAP-P1 PET'i karşılaştırmışlardır. İyileşmekte olan kortikal kemik defekti bulunan hayvanlarda ortalama VAP-1 ekspresyon düzeyi açısından 24. saatte ve 7 günde anlamlı farklılık saptanmamıştır. Osteomyeliti olan hayvanlarda ise ortalama VAP-1 ekspresyon düzeyi 7. günde, 24. saate oranla anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur. VAP-1 ekspresyon düzeyleri her iki zaman değerinde de enfekte hayvanlarda iyileşmekte olan kortikal kemik defekti olanlara oranla anlamlı olarak daha yüksek saptanmıştır (35).

Ga-68 ile işaretlenmiş ve preklinik çalışmalarda kullanılan diğer enfeksiyon ajanlarının listesi Tablo 1'de gösterilmiştir.

Tablo 1. Ga-68 ile işaretlenmiş ve prelinik çalışmalarda kullanılan enfeksiyon ajanları (33)

Radyofarmasötik	Hedef	Uygulama
Ga-68-DOTA-depisdometisin	Bakteri hücre duvarı	Tüberküloz, <i>E. coli</i>
Ga-68-siprofloksazin	Bakteriyel DNA giraz	Kas-iskelet sistemi enfeksiyonları
Ga-68-klorür	Transferrin reseptörleri, ferritin, laktoferrin	Klamidya ve genitoüriner sistem enfeksiyonları
Ga-68-TAFC/FOXE	Sideroforlar; bakteri ve mantarda demir taşıyıcılar	Aspergillozis
Ga-68-klorür/apotransferrin	Transferrin reseptörleri, ferritin, laktoferrin	Kas-iskelet sistemi enfeksiyonu ve enflamasyon
Ga-68-NOTA-UBI 29-41	Bakteri hücre duvarı	Kas iskelet sistemi enfeksiyonu, enflamasyon, tüberküloz

I-124/I125 fialuridin: Radioiyodine edilmiş timidin analogu olan fialuridin (FIAU) ile enfeksiyon görüntülemesi araştırmaları yapılmıştır. Pullambhatla ve ark. farelerde bakteriyel pulmoner enfeksiyon görüntülemeye I-125 FIAU'nun rolünü araştırmışlardır. Enfekte akciğerlerde enjeksiyondan iki saat sonra tutulum saptanmış ve bu tutulum enfekte olmayan enflame akciğerlere ve kontrollere göre anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur. Antibiyotik tedavisi sonrasında ise tutulumda anlamlı bir düşüş saptanmıştır. Araştırmacılar, radyoşaretli FIAU bakteriyel görüntülemenin yeni antibiyotiklerin geliştirilmesinde faydalı olabileceğini belirtmişlerdir (36). Benzeri çalışmalar I-124 FIAU PET/ BT ile de yapılmış kas iskelet sistemi enfeksiyonlarında yeterli etkinliğe sahip olmadığı gözlenmiştir.

Spesifik Bakteriyel Görüntülemeye Potansiyel Yeni Görüntüleme Ajanları

Bakteriyel enfeksiyonlar için yeni görüntüleme ajanları geliştirmek önemli bir araştırma alanıdır. Spesifik metabolik yollar, bakterinin yapısı ve benzersiz hücre duvarı özellikleri görüntüleme için fırsat veren özelliklerdir. Hibrid görüntüleme bakteriyel görüntüleme olanaklarını daha da artırabilir. Daha sonraki aşamada ise onkolojide uyguladığımız şekilde bu görüntüleme ajanları antibiyotiklerle birleştirilerek hedefe yönelik tedaviler geliştirilebilir.

Ayrıca, bakteriye özgü görüntüleme, enfektif odakları eşlik eden patolojiler nedeniyle diğer lezyonlardan (kanser, travma vb.) ayırt etmeye yardımcı olabilir. Spesifik bakteri görüntülemenin zorlukları vardır. Bu zorluklar bazı yayınlanmış mektup ve görüşlerle ifade edilmiş, hatta bazı yazarlar elde edilecek sonuçların bu çabaya değmeyeceğini öne sürmüşlerdir (37). Bakterilere özgü araştırmalarda farklı görüntüleme yöntemleri kullanılmaktadır (PET, SPECT ve optik görüntüleme).

Çoğu prelinik düzeyde araştırılan bu yöntemlerden sadece isim olarak bahsedilecektir.

1. Konağın enflamatuvar yanıtlarını gösterenler:

- Antimikrobiyal peptidler: UBI 29-41 (Tc-99m, Ga-68)
- Sitokinler (I-123, I-125)

2. Bakterilerden salınan veya sunulan maddeler:

- Radyo işaretlenmiş antibiyotikler: Siprofloksasin, sülfonamidler, vancomycin, beta-lactam bazlı ajanlar, aminoglükozidler, doksisisiklin, linkozamidler, nitrofuran, rifampisin, puromisin, oksazolidinonlar.

-Antibiyotikler dışındaki bakteriler tarafından sunulan maddeleri görüntüleme izleyicileri: Nükleozid analogları (FIAU)(I-124, I-125), zinc dipicolylamine (In-111) concanavalin A (NIR dye IR750), protrombin (Cu-64), peptidoglikan aptamerleri (Tc-99m), sideroforlar (Ga-68), bakteri spesifik antikorlar (Cu-64), bakteriofaj (Tc-99m).

3. Bakterilere özgü metabolizmayı gösterenler:

- Bakteriyel karbonhidrat metabolizması görüntülemesi: Glukoz-6-Fosfat, sorbitol, amino şekerler, maltoheksaz, D-mannitol,
- Bakteriyel aminoasit uptake görüntülemesi: D-metiyonin,
- Bakteriyel vitamin uptake görüntülemesi: Biotin, vitamin B12, paraaminobenzoik asit (27).

Prelinik Enfeksiyon Çalışmalarında Kullanılan Diğer Görüntüleme Yöntemleri

Manyetik rezonans görüntüleme: Deney hayvanlarında yüksek çözünürlüklü (50-100 μ m) noninvaziv bir görüntüleme yöntemidir. Yumuşak doku kontrastı mükemmeldir. MRG görüntüsü anatomik yapıları, dokuların kan akımını ve difüzyonu gösterebilir. Kontrast maddeler hücre veya dokuları özel olarak incelemek için kullanılabilir.

Bilgisayarlı tomografi: Farelerde kemik görüntüleme için mikro-BT altın standarttır. Yumuşak dokuları incelemek için kontrastlı ajanlara ihtiyaç vardır. BT’de MRG gibi boylamsal çalışmalara izin verir. X-Ray temeline dayanan, dakikalar içinde hızlı görüntülemeye olanak tanıyan yüksek rezolüsyona sahip (>50 $\mu\text{mL/L}$) bir görüntüleme yöntemidir. BT’de en önemli sorun yüksek radyasyon dozudur. Tekrarlayan görüntülemelerde biyolojik yollarda değişiklikler meydana getirebilir. Boylamsal çalışmalarda bu özellik gözden kaçırılmamalıdır.

Ultrasonografi: Yüksek uzaysal çözünürlüğe sahiptir (50 μm) ve yumuşak dokuda yüksek kontrast oluşturur. Noninvaziv, taşınabilir, hızlı, radyasyon içermeyen ve ekonomik bir yöntemdir. Küçük hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalarda ekokardiyografi yoğun şekilde kullanılmıştır.

Anatomik görüntüleme yöntemlerinin en önemli dezavantajı enfeksiyonun oluşturduğu morfolojik değişiklikler oluşmadan bilgi verememeleridir.

Biyoluminesans görüntüleme: Patojenik mikroorganizmaların varlığını lokalize etmek ve miktarını ölçmek için kullanılan geleneksel deneysel yöntemler deney hayvanlarının kurban edilmesini gerektiriyordu. Ancak, ışık üreten lusiferaz enziminin keşfi ve bu enzimin genetik uygulamalarla bakteri, mantar, parazit ve

farelere uygulanmasından sonra kameralar yardımıyla bu ışığın kaydedilmesiyle, yaşayan hayvanlardan, uzun süreli izleme enfeksiyöz mikroorganizmaların yeri ve büyümesi hakkında bilgi edinilmesi sağlandı.

Optik görüntüleme, küçük bir hayvanın vücudundaki görünür ışığı üretmek ve algılamak için iki yöntemden birini kullanır: Floresan ve biyoluminesans. Her iki yöntem de birkaç mm’lik sınırlı derinlikte yüksek hassasiyete (10-15 mL/L ’ye kadar) sahiptir. BLG teknolojisi, travmatik deri yaralarında ve yanıklarda bakteriyel enfeksiyonları takip etmek için, osteomyelit, barsak enfeksiyonları, mikobakteriyel enfeksiyonlar, orta kulak iltihabı, akciğer enfeksiyonları, biyofilm, endodontik enfeksiyonlar ve menenjit araştırmalarında kullanılmıştır. Ayrıca BLG ile mantarlar, sıtma, leishmania, tripanozoma ve toksoplazmanın neden olduğu enfeksiyonlar izlenmiştir. Herpes simpleks, Hepatit B, C ve influenza gibi virüsler ve aşılarda çalışılmıştır. BLG kullanımı hayvan çalışmalarında ihtiyaç duyulan hayvan sayısını önemli ölçüde azaltmıştır (3).

Tablo 2’de küçük hayvan modellerindeki enfeksiyon görüntüleme çalışmalarında kullanılan yöntemlerin nerede kullanıldığı, avantajları ve sınırlılıkları gösterilmektedir.

Tablo 2. Deneysel hayvan modellerinde enfeksiyon çalışmalarında kullanılan görüntüleme yöntemleri (38)

Yöntem	Nerede kullanılır?	Avantajları	Dezavantajları
SPECT	Metabolizma, fonksiyon perfüzyon, hipoksi, apoptozis	Kalitatif ve kantitatif değerlendirme, dinamik görüntüleme, moleküler görüntüleme	İyonize radyasyon, düşük rezolüsyon
PET	Metabolizma ve fonksiyon, hücre proliferasyonu, apoptozis, hipoksi	Kantitatif fonksiyonel değerlendirme, pikomolar sensitivite, moleküler görüntüleme, dinamik görüntüleme	İyonize radyasyon, pahalı
MR	Yumuşak doku, anjiyografi, perfüzyon değerlendirmesi, hipoksi	Rezolüsyonu yüksek, radyasyon maruziyeti yok, morfolojik, fonksiyonel, perfüzyon, difüzyon	Görüntüleme süresi uzun
BT	Kemik, akciğer, kalp ve tüm vücut morfolojik görüntülemesi	Görüntüleme süresi kısa, yüksek rezolüsyon (<50 μm)	Kantitatif değil, iyonize radyasyon dozu yüksek, yumuşak doku görüntülemesi ve anjiyografi için kontrast uygulama gerekliliği
US	Tüm vücutta kullanılır (özellikle yumuşak doku incelemeleri için), kalpte (ekokardiyografi)	Noniyonizan, ucuz, anatomik rezolüsyonu yüksek	Kantitatif değerlendirme yapılamaz, hava ve kemik dokular artefakta sebep olur
Optik görüntüleme	Tek hücre ve tek gen görüntülemesi	Noniyonizan, ucuz ve moleküler düzeyde değerlendirme	İnsanlarda kullanılmaz

SPECT: Tek foton emisyon bilgisayarlı tomografi, PET: Pozitron emisyon tomografi, MR: Manyetik rezonans, BT: Bilgisayarlı tomografi, US: Ultrasonografi

Enfeksiyonun Moleküler Görüntülemesinde Gelecek Perspektifi ve Sonuç

Çoğu enfeksiyon görüntüleme ajanları hala preklinik araştırma aşamasındadır. Bunların çok büyük bir kısmı Tc-99m ile işaretlenmiştir. PET ve özellikle hibrid PET cihazlarıyla ortaya çıkan görüntü rezolüsyonundaki iyileşmeler, PET ajanlarının enfeksiyon görüntülemesinde potansiyelini artırmıştır. Yeni geliştirilen yöntemlerle enfeksiyon görüntüleme F-18, Tc-99m'nin yerini alabilir. Son yıllarda jeneratör aracılığıyla üretilen Ga-68 de gerek kolay temini, gerekse kolay işaretlenme özellikleri nedeniyle, tek başına veya çeşitli moleküllerle işaretlenerek potansiyel bir enfeksiyon görüntüleme ajanı haline gelmiştir. Ga-68 ve F-18'in kısa yarı ömürleri nedeniyle enfeksiyon görüntüleme kısıtlılıkları, Cu-64 (12,7 saat) ve Zr-89 (78 saat) gibi daha uzun yarı ömre sahip radyoizotoplarla peptidlerin işaretlenmesiyle aşılabileceği düşünülmüştür. Daha uzun etkili radyoizotoplar enfeksiyon görüntüleme bir gereklilik olan geç görüntülemeye olanak sağlar. Ancak bu radyoizotoplarda halen en büyük sorun yüksek radyasyon maruziyetleridir. Enfekte bölgelere nanopartiküllerle işaretlenmiş antibiyotik vermek enfekte bölgeye yüksek doz antibiyotik verilmesine ve antibiyotiğin sistemik etkilerinin en aza indirilmesine olanak tanır. Ayrıca, antibiyotikler radyoizotoplar ile işaretlenerek antibiyotik tedavi süresinin kısaltılması ve tedaviye dirençli organizmaların tedavisi mümkün olabilir.

PET ve MRG şu anda kendi kategorisinde en iyi görüntüleme modaliteleri olmakla birlikte, her iki görüntüleme yöntemi birleştirilerek hem anatomik hem de metabolik görüntülemenin sağlanması çok önemli bir avantajdır. PET radyofarmasötiklerinde ortaya çıkacak yeni gelişmeler bu mükemmel görüntüleme aracının faydasını daha da artıracaktır. Bakterilere özgü görüntüleme ajanlarının keşfi hedefe yönelik tedavilerin başarısını artıracaktır.

Finansal Destek: Yazarlar tarafından finansal destek alınmadığı bildirilmiştir.

Çıkar çatışması: Yazarlar arasında çıkar çatışması yoktur.

Kaynaklar

1. WHO. World Health Statistics 2014. Available at: http://www.who.int/gho/publications/world_health_statistics/2014.
2. Beltman JB, Maree AF, De Boer RJ. Spatial modelling of brief and long interactions between T cells and dendritic cells. *Immunol Cell Biol* 2007;85:306-314.
3. Altun GD, Üstün F. Klinik öncesi görüntüleme yöntem ve protokoller. Editörler: Perihan Ünak, Gülay Durmuş Altun, Serap Teksöz, Zümrüt Biber Müftüler. *Uygulamalı Temel Radyofarmasi*. 1. baskı, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 2017. Sayfa:1-14.
4. Patel M, Rojavin Y, Jamali AA, et al. Animal models for the study of osteomyelitis. *Semin Plast Surg* 2009;23:148-154.
5. An YH, Kang QK, Arciola CR. Animal models of osteomyelitis. *Int J Artif Organs* 2006;29:407-420.
6. Norden CW. Lessons learned from animal models of osteomyelitis. *Rev Infect Dis* 1988;10:103-110.
7. Lankinen P, Noponen T, Autio A, et al. A Comparative ⁶⁸Ga-Citrate and ⁶⁸Ga-Chloride PET/CT Imaging of Staphylococcus aureus Osteomyelitis in the Rat Tibia. *Contrast Media Mol Imaging* 2018;25:1-10.
8. Wang Y, Cheng LI, Helfer DR, et al. Mouse model of hematogenous implant-related Staphylococcus aureus biofilm infection reveals therapeutic targets. *Proc Natl Acad Sci USA* 2017;114:5094-5102.
9. Johansson A, Svensson O, Blomgren G, et al. Anaerobic osteomyelitis. A new experimental rabbit model. *Clin Orthop Relat Res* 1991;297-301.
10. Ozturk AM, Tabak AY, Aktekin CN, et al. Alendronate enhances antibiotic impregnated bone grafts in the treatment of osteomyelitis. *Int Orthop* 2008;32:821-827.
11. Emslie KR, Nade S. Acute hematogenous staphylococcal osteomyelitis. A description of the natural history in an avian model. *Am J Pathol* 1983;110:333-345.
12. Bremell T, Lange S, Yacoub A, et al. Experimental Staphylococcus aureus arthritis in mice. *Infect Immun* 1991;59:2615-2623.
13. Tissi L, Marconi P, Mosci P, et al. Experimental model of type IV Streptococcus agalactiae (group B streptococcus) infection in mice with early development of septic arthritis. *Infect Immun* 1990;58:3093-3100.
14. Lucke M, Schmidmaier G, Sadoni S, et al. A new model of implant-related osteomyelitis in rats. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 2003;67:593-602.
15. Gristina AG, Shibata Y, Giridhar G, et al. The glycocalyx, biofilm, microbes, and resistant infection. *Semin Arthroplasty* 1994;5:160-170.
16. Gupta K, Donnola SB, Sadeghi Z, et al. Intrarenal injection of escherichia coli in a rat model of pyelonephritis. *J Vis Exp* 2017;54649.
17. Majd M, Nussbaum Blask AR, Markle BM, et al. Acute pyelonephritis comparison of diagnosis with 99mTc-DMSA, SPECT, spiral CT, MR imaging, and power Doppler US in an experimental pig model. *Radiology* 2001;218:101-108.
18. Van der Laken CJ, Boerman OC, Oyen WJG, et al. In-vivo expression of IL-1 receptors during various experimentally induced inflammatory conditions. *J Infect Dis* 1998;177:1398-1401.

19. Ertay T, Sencan Eren M, Karaman M, Oktay G, Durak H. ¹⁸F-FDG-PET/CT in Initiation and Progression of Inflammation and Infection. *Mol Imaging Radionucl Ther* 2017;26:47-52.
20. Gibson GW, Kreuser SC, Riley JM, et al. Development of a mouse model of induced *Staphylococcus aureus* infective endocarditis. *Comp Med* 2007;57:563-569.
21. McCormick JK, Tripp TJ, Dunny GM, et al. Formation of vegetations during infective endocarditis excludes binding of bacterial-specific host antibodies to *Enterococcus faecalis*. *J Infect Dis* 2002;185:994-997.
22. Turan C, Tutuş A, Ercan MT, et al. Evaluation of ^{99m}Tc-citrate, ⁶⁷Ga-citrate and ^{99m}Tc(V) dimercaptosuccinic acid for the scintigraphic visualization of acute appendicitis. *Res Exp Med (Berl)* 1997;197:157-164.
23. Ertay T. Enfeksiyon-Enflamasyon: Moleküler Görüntüleme Kullarılan SPECT Radyofarmasötikleri. *Nucl Med Semin* 2016;2:63-70.
24. Goldsmith SJ, Vallabhajosula S. Clinically proven radiopharmaceuticals for infection imaging: mechanisms and applications. *Semin Nucl Med* 2009;39:2-10.
25. Heiba S, Kneřaurek K. Evaluation of diabetic foot infection in nuclear medicine. *Q J Nucl Med Mol Imaging* 2017;61:283-291.
26. Heiba S, Kolker D, Ong L, et al. Dual-isotope SPECT/CT impact on hospitalized patients with suspected diabetic foot infection: saving limbs, lives, and resources. *Nucl Med Commun* 2013;34:877-884.
27. Ankrah AO, Klein HC, Elsinga PH. New imaging tracers for the infected diabetic foot (nuclear and optical imaging). *Curr Pharm Des* 2018;24:1287-1303.
28. Glaudemans AW, de Vries EF, Galli F, et al. The use of (18) F-FDG-PET/CT for diagnosis and treatment monitoring of inflammatory and infectious diseases. *Clin Dev Immunol* 2013;2013:623036.
29. Pellegrino D, Bonab AA, Dragotakes SC, et al. Inflammation and infection: Imaging properties of ¹⁸F-FDG-labeled white blood cells versus ¹⁸F-FDG. *J Nucl Med* 2005;46:1522-1530.
30. Pio BS, Byrne FR, Aranda R, et al. Noninvasive quantification of bowel inflammation through positron emission tomography imaging of 2-deoxy-2-[¹⁸F]fluoro-D-glucose-labeled white blood cells. *Mol Imaging Biol* 2003;5:271-277.
31. Bhargava KK, Gupta RK, Nichols KJ, Palestro CJ. In-vitro human leukocyte labeling with (⁶⁴Cu): an intraindividual comparison with (¹¹¹In)-oxine and ¹⁸F-FDG. *Nucl Med Biol* 2009;36:545-549.
32. Locke LW, Chordia MD, Zhang Y, et al. A novel neutrophil-specific PET imaging agent: cFLFLFK-PEG-⁶⁴Cu. *J Nucl Med* 2009;50:790-797.
33. Vorster M, Maes A, Wiele Cv, Sathekge M. Gallium-68 PET: a powerful generator-based alternative to infection and inflammation imaging. *Semin Nucl Med* 2016;46:436-47.
34. Kumar V, Boddeti DK, Evans SG, Angelides S. ⁶⁸Ga-citrate-PET for diagnostic imaging of infection in rats and for intra-abdominal infection in a patient. *Curr Radiopharm* 2012;5:71-75.
35. Ujula T, Salomäkia S, Virsua P, et al. Synthesis, ⁶⁸Ga labeling and preliminary evaluation of DOTA peptide binding vascular adhesion protein-1: a potential PET imaging agent for diagnosing osteomyelitis. *Nucl Med Biol* 2009;36:631-641.
36. Pullambhatla M, Tessier J, Beck G, et al. ¹²⁵I-FIAU imaging in a preclinical model of lung infection: quantification of bacterial load. *Am J Nucl Med Mol Imaging* 2012;2:260-270.
37. Hess S, Alavi A, Werner T, Hoiland-Carlson PF. Molecular imaging of bacteria in patients is an attractive fata morgana, not a realistic option. *J Nucl Med* 2018;59:716-717
38. Jelicks LA, Lisanti MP, Machado FS, et al. Imaging of small-animal models of infectious diseases. *Am J Pathol* 2013;182:296-304.