



ANTIFÚNGICOS RADIOMARCADOS COM ^{99m}Tc PARA O DIAGNÓSTICO DE INFECÇÕES FÚNGICAS: UMA REVISÃO

Amanda E. Fernandes¹, Daniela C. Simião¹, Adrielle P. Castro¹, Kátia R. Almeida¹,
Simone O. A. Fernandes¹

¹Laboratório de Radioisótopos da Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais
Av. Antônio Carlos 6627 - Campus UFMG - CEP 31.270-901 - Belo Horizonte - MG – Brasil.
simoneodilia@yahoo.com.br

Palavras-Chave: Antifúngicos radiomarcados, Tecnécio-99m, Diagnóstico.

RESUMO

Introdução: Nos últimos anos, houve um aumento significativo na incidência de infecções fúngicas principalmente em pacientes imunossuprimidos, gerando uma elevação no tempo de hospitalização, bem como nos custos e taxas de morbimortalidade. Desta forma, há uma carência de métodos diagnósticos rápidos e específicos para infecções fúngicas, o que corrobora muitas vezes para o início de terapia antifúngica empírica, diagnósticos tardios e uso inadequado de antifúngicos. Como consequência, ocorre falha terapêutica e piora no prognóstico do paciente. Nesse contexto, as técnicas de medicina nuclear podem contribuir grandiosamente no diagnóstico de infecções fúngicas desde que utilizados radiotraçadores que possuam seletividade às áreas de foco infeccioso. **Objetivo:** realizar uma revisão narrativa sobre antifúngicos radiomarcados com tecnécio-99-metaestável (^{99m}Tc) para o diagnóstico de infecções fúngicas. **Metodologia:** Foi realizada uma busca nas bases de dados PubMed, Scielo, Scopus e BVS. Os descritores “radiolabeled antifungals”, “ ^{99m}Tc ”, “infections” foram combinados empregando o bolear AND e OR entre eles, sendo inseridos nas abas de busca de cada base segundo as suas características e limitações. Foram selecionados artigos em português, espanhol e inglês sem restrição de data. Artigos de revisão, notas, editoriais, cartas, trabalhos apresentados em eventos científicos e artigos que não apresentavam material original foram excluídos. **Resultados e discussão:** Ao todo, foram incluídos oito artigos na presente revisão, com período de publicação entre os anos de 2002 e 2021. Foram encontrados seis antifúngicos radiomarcados, sendo eles fluconazol, cetoconazol, voriconazol, caspofungina, anidulafungina e anfotericina B. Todos os estudos utilizaram o ^{99m}Tc como isótopo radioativo obtendo uma pureza radioquímica superior a 90%. Cerca de 87,5% (7/8) dos estudos utilizaram modelos de infecção com *Candida albicans*, 37,5% (3/8) com *Aspergillus fumigatus*, 37,5% (3/8) com *Aspergillus niger* e 12,5% (1/8) com *Rhizopus arrhizus*. Um total de 87,5% (7/8) dos estudos fizeram modelo de infecção *in vivo*, sendo 100% deles com a injeção do inóculo fúngico no músculo da coxa de camundongos. Desses, cerca de 62,5% conseguiram diferenciar infecção fúngica de inflamação estéril. **Conclusão:** Os resultados obtidos elucidaram as principais características envolvendo o processo de marcação de antifúngicos tradicionalmente empregados na clínica, bem como sua aplicabilidade na detecção de infecções fúngicas a curto prazo, com destaque para diagnóstico diferencial entre infecções fúngicas e inflamações estéreis.

1. INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, houve um aumento significativo na incidência de infecções fúngicas principalmente em pacientes imunossuprimidos. Segundo os dados dos Centros de Controle e Prevenção de Doenças dos EUA, as infecções causadas pelos fungos estão entre as principais causas de infecções nosocomiais [1].

Em 2022 a Organização Mundial da Saúde publicou a lista de patógenos fúngicos prioritários para a concentração de pesquisas e desenvolvimento de ações para fortalecer as respostas às infecções fúngicas e a resistência aos antifúngicos. Neste documento estão presentes como patógenos críticos *Cryptococcus neoformans*, *Candida auris*, *Aspergillus fumigatus* e *Candida albicans* [2]. Ao contrário dos antibióticos, o arsenal terapêutico antifúngico é reduzido, sendo



atualmente apenas três classes preconizadas para tratamento e manejo de infecções invasivas [3]. Um fator limitante ao desenvolvimento de novos agentes antifúngicos é a semelhança acentuada com células humanas, uma vez que, também são eucariontes. Além disso, o uso desnecessário e/ou inadequado desses antifúngicos remete ao surgimento de cepas multirresistentes, o que dificulta ainda mais o tratamento dessas infecções [3].

Nessa direção, é extremamente importante a identificação da infecção em sua fase inicial. No entanto, existem limitações nos métodos micológicos laboratoriais que implicam diretamente na tomada de decisão clínica, como o tempo de crescimento do microrganismo em meios de cultura (que pode demorar de dias a semanas), baixa sensibilidade e especificidade [4].

Assim, as técnicas de medicina nuclear podem contribuir significativamente no diagnóstico de infecções fúngicas desde que, utilizados radiotraçadores que possuam seletividade às áreas de foco infeccioso. Um radiotraçador frequentemente utilizado é o ^{99m}Tc que emite radiação gama de 140 keV, possui meia-vida de 6,02 horas e é facilmente obtido em geradores partir do decaimento do molibdênio-99. Os geradores de ^{99m}Tc permitem a produção local e rápida, oferecendo maior flexibilidade no uso do radionuclídeo para diversos exames diagnóstico [5].

Sendo assim, o uso de radiofármacos para detecção de infecções tem ganhado cada vez mais atenção por sua aplicação em medicina nuclear [6]. Diante do exposto, o uso de antifúngicos radiomarcados possui diversas vantagens em relação aos métodos de diagnóstico tradicionais, como por exemplo ser uma metodologia menos invasiva, mais rápida, e potencialmente capaz de realizar a detecção do foco infeccioso [7].

2. METODOLOGIA

Foi realizada uma revisão bibliográfica narrativa sobre os principais agentes antifúngicos radiomarcados para o diagnóstico de infecções fúngicas durante o período de janeiro a outubro de 2023, sendo utilizadas as seguintes bases de dados: PubMed, Scielo, Scopus e BVS (Biblioteca Virtual de Saúde). Os descritores “radiolabeled antifungals” “ ^{99m}Tc ” “infections” foram combinados empregando o bolear AND e OR entre eles, sendo inseridos nas abas de busca de cada base segundo as suas características e limitações. Foram selecionados artigos em português, espanhol e inglês sem restrição de data. Artigos de revisão, notas, editoriais, cartas, trabalhos apresentados em eventos científicos e artigos que não apresentavam material original foram excluídos.

3. RESULTADOS

Foram incluídos nesta revisão três estudos recuperados do PubMed/MEDLINE e cinco estudos na base Scopus. Nas bases de dados Scielo e BVS não foram encontrados estudos referentes ao tema abordado. Neste trabalho, foram analisados os dados obtidos de estudos pré-clínicos que utilizaram antifúngicos radiomarcados com finalidade de diagnóstico de foco infeccioso fúngico, compreendendo também sua biodistribuição em modelos *in vivo*. Os principais resultados são apresentados com mais detalhes na Tab 1.

Dos oito estudos selecionados, dois realizaram a marcação de fluconazol [8] [9], um estudo realizou a marcação de cetoconazol [6], um estudo realizou a marcação de voriconazol [11], um estudo fez a marcação de caspofungina [10], um realizou a marcação de anidulafungina [12] e dois realizaram a marcação de anfotericina B [13] [14]. Quatro estudos utilizaram o precursor ^{99m}Tc -tricarbonil para obtenção do radiotraçador [11] [10] [14] [12]. Todos os estudos utilizaram o ^{99m}Tc como isótopo radioativo. Um estudo também realizou a marcação com Gálio-68 [13].



Tab 1: Principais achados dos estudos incluídos.

Referência	Antifúngico	Agente redutor	T/NT	Tipo de estudo	Rendimento da marcação	Estabilidade da marcação	Fungo testado	Modelo de infecção	Diferenciou infecção de inflamação?
Lupetti et al., 2002	Fluconazol	$\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ e KBH_4	<ul style="list-style-type: none"> • <i>C. albicans</i>: 2,1 +/- 1,1 % ID/g após 4h da administração. • <i>A. fumigatus</i>: 0,6 +/- 0,2 % ID/g após 4h da administração. 	Biodistribuição e Cintilografia	Superior a 95%	<ul style="list-style-type: none"> • 24 horas a 37°C em soro. 	<i>C. albicans</i> <i>A. fumigatus</i>	Músculo da coxa	Sim
Reyes et al., 2011	Voriconazol	NaBH_4	<ul style="list-style-type: none"> • <i>C. albicans</i>: 4,2% ID/g • <i>A. niger</i>: 2,60 	Biodistribuição e Cintilografia	~90%	<ul style="list-style-type: none"> • 2 horas • 50% quando em presença de His e Cis 	<i>C. albicans</i> , <i>A. niger</i>	Musculo da coxa	Sim
Reyes et al., 2014	Caspofungina	NaBH_4	<ul style="list-style-type: none"> • <i>C. albicans</i>: 9,5 • <i>A. niger</i>: 13,4 	Biodistribuição e Cintilografia	Superior a 90%	<ul style="list-style-type: none"> • 20 horas • 4 horas em plasma 	<i>C. albicans</i> , <i>A. niger</i>	Músculo da coxa	Sim



Semana Nacional de Engenharia Nuclear e da Energia e Ciências das Radiações – VII SENCIR

Belo Horizonte, 12 a 14 de novembro de 2024

Fernandez & Teran, 2017	Anfotericina B	NaBH ₄	<ul style="list-style-type: none"> • <i>C. albicans</i>: 4,7 +/- 0,6 • <i>A. niger</i>: 2,4 +/- 0,1 	Biodistribuição	Superior a 90%	<ul style="list-style-type: none"> • 20 horas • 4 horas em plasma (95%) 	<i>C. albicans</i> , <i>A. niger</i>	Músculo da coxa	Sim
Assis et al., 2018	Fluconazol	SnCl ₂ · 2H ₂ O e KBH ₄	Dados não disponíveis	Biodistribuição	Superior a 90%	Dados não disponíveis	<i>C. albicans</i>	Músculo da coxa	Dados não disponíveis
Page et al., 2020	Anfotericina B	SnCl ₂ · 2H ₂ O	Dados não disponíveis	Cintilografia	99%	4h em plasma (98%)	<i>A. fumigatus</i> , <i>R. arrhizus</i>	Células HPAEC	Dados não disponíveis
El-Kawy et al, 2020	Anidulafungina	CH ₃ BNa ₂ O ₃ Na ₂ B ₄ O ₇	<ul style="list-style-type: none"> • <i>C. albicans</i> 6,5% ±0,3% após 2h da administração • <i>A. fumigatus</i> 5,2 ± 0,2 após 2h da administração 	Biodistribuição e Cintilografia	98%	<ul style="list-style-type: none"> • 12 horas • 10h em plasma (90%) 	<i>C. albicans</i> , <i>A. fumigatus</i>	Músculo da coxa	Sim
Kurniawan et al., 2021	Cetoconazol	SnCl ₂ · 2H ₂ O	<ul style="list-style-type: none"> • <i>C. albicans</i> 0,17±0,12% ID/g 	Biodistribuição	94,59%	Dados não disponíveis	<i>C. albicans</i>	Músculo da coxa	Dados não disponíveis

Fonte: elaborado pelo autor

¹ *C. albicans* = *Candida albicans*; *A. niger* = *Aspergillus niger*; *A. fumigatus* = *Aspergillus fumigatus*; SnCl₂ · 2H₂O = cloreto estano dihidratado; NaBH₄ = boridreto de sódio; KBH₄ = tetraborato de potássio; CH₃BNa₂O₃ = borocarbonato de sódio; Na₂B₄O₇ = tetraborato de sódio. HPAEC = *Human Pulmonary Artery Endothelial Cells*; T/NT = (target/no target) alvo/não alvo.



Todos os estudos apresentaram pureza radioquímica superior a 90%, demonstrando que as técnicas de marcação utilizadas foram efetivas. Dois estudos utilizaram somente o $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ como agente redutor [13] [6], dois estudos utilizaram $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ associado a KBH_4 [8] [9] e três estudos utilizaram somente NaBH_4 como agente redutor do $^{99\text{m}}\text{Tc}$ [10] [11] [14].

Ademais, nos estudos que realizaram modelo *in vivo*, a infecção foi induzida pela injeção do inóculo fúngico (média de $4,7 \times 10^7$ UFC/0,1 mL) no tecido muscular da coxa desses animais. Apenas um estudo [13] utilizou avaliação *in vitro* em células HPAEC (*Human Pulmonary Artery Endothelial Cells*) em monocamadas nas microplacas para avaliação da infecção. Essas células são caracterizadas como células endoteliais que revestem as artérias pulmonares, modelo escolhido por facilitar o desenvolvimento da infecção e ser altamente reprodutível.

3.1. Azólicos marcados com $^{99\text{m}}\text{Tc}$

Os primeiros estudos que utilizaram a marcação do fluconazol com $^{99\text{m}}\text{Tc}$ partiram da necessidade de criação de uma ferramenta de diagnóstico para discriminar infecções fúngicas de infecções bacterianas e processos inflamatórios estéreis [15].

No estudo realizado por Lupetti e colaboradores (2002), realizou-se a investigação onde definiu-se que o fluconazol (triazólico) marcado com $^{99\text{m}}\text{Tc}$ seria capaz de diferenciar infecções fúngicas provocadas por *C. albicans* de infecções bacterianas e processos inflamatórios. Além do alto grau de pureza radioquímica em pH 7,5, as impurezas radioquímicas $^{99\text{m}}\text{TcO}_2$ (colóide) e $^{99\text{m}}\text{TcO}_4$ representavam menos que 5% da atividade total. Para Kurniawan e colaboradores (2021), ao utilizar somente o agente redutor $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ para marcar as moléculas de cetoconazol (imidazólico) com $^{99\text{m}}\text{Tc}$, a pureza radioquímica obtida mostrou-se ainda mais expressiva, sem aquecimento durante a marcação e em pH de solução próximo a 4,5.

A estabilidade de marcação obtida por Lupetti e colaboradores [9] foi de 24 horas em soro sob temperatura de 37°C , onde 95% da atividade foi preservada, demonstrando a efetividade da marcação proposta em condições fisiológicas. Os dados sobre a estabilidade dos estudos realizados por Assis (2018) e Kurniawan (2021) não estão disponíveis.

Nos ensaios de ligação do $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -fluconazol *in vitro* realizado por Lupetti e colaboradores [8] observou-se valores baixos para *Staphylococcus aureus* ($3\% \pm 0,4$, $n=12$) e *Klebsiella pneumoniae* ($6\% \pm 0,1$, $n=8$) comparado ao perfil de ligação preferencial em *C. albicans* ($38\% \pm 3$, $n=18$). O complexo $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -fluconazol ao diferenciar infecções bacterianas e processos inflamatórios, reflete os achados de alvo/não alvo (*target/no target* T/NT) após quatro horas da injeção do radiotraçador, onde houve o acúmulo de $1,3 \pm 0,04$ ($n=6$) para infecções bacterianas e a não detecção de inflamações estéreis nos modelos apresentados.

Além disto, Lupetti e colaboradores (2022) realizaram o teste para diferenciação de infecção fúngica com cepas de *A. fumigatus* e processos inflamatórios, ambos realizados em camundongos leucocitopênicos sendo observado relação T/NT de $0,6 \pm 0,2\%$ ID/g, caracterizando a afinidade do $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -fluconazol para *A. fumigatus* mais baixa quando comparada a captação por *C. albicans*.

Embora o estudo realizado por Assis e colaboradores (2018) seja direcionado para avaliação da biodistribuição do $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -fluconazol livre, fluconazol encapsulado em nanopartículas ($^{99\text{m}}\text{Tc}$ -fluconazol-nanocápsulas) com cadeias de PEG adsorvido com poloxâmero (PLA-POLOX) e ligadas covalentemente a PLA-PEG, o artigo demonstra que as formulações nanoencapsuladas são atraídas pelo foco infeccioso e distinguem relações T/NT. Além disso, aumenta a capacidade de captação do $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -fluconazol-nanocápsulas em função da fagocitose da formulação



nanoencapsulada aumentada pelas células polimorfonucleadas presentes no foco infeccioso, quando comparado a formulação de ^{99m}Tc -fluconazol livre.

Kurniawan e colaboradores (2021) não obtiveram resultados expressivos ao utilizar o cetoconazol marcado com ^{99m}Tc , obtendo baixas captações *ex vivo* no músculo infectado como órgão alvo ($0,17 \pm 0,12\%$ ID/g), após 1 hora da infecção.

Já para o triazol voriconazol radiomarcado por Reyes e colaboradores (2011) [11], foi empregado um complexo radiotraçador utilizando-se o precursor ^{99m}Tc -tricarbonil, desenvolvido por Alberto e colaboradores [16]. Seus estudos em modelo *in vivo* utilizando-se ratos wistar por meio de lesão induzida no músculo da coxa, demonstraram relação T/NT de 4,2 para o modelo infeccioso com *C. albicans* e 2,6 para o modelo de infecção por *A. niger*. Esses dados mostram uma maior sensibilidade na detecção de infecções causadas por *C. albicans* do que por *A. niger*, entretanto mantendo a capacidade de diferenciar infecção fúngica de inflamação, uma vez que, a relação T/NT foi de 1,2 para o foco de inflamação estéril.

Embora o radiotraçador desenvolvido por Reyes e colaboradores (2011) [11] apresenta a diferenciação do processo inflamatório estéril da infecção fúngica induzida, a estabilidade da marcação permanece por até 2 horas, com queda de 50% quando em presença dos aminoácidos histidina e cisteína, denotando interferência resultante da troca de ligantes. Essa avaliação *in vitro* é potencialmente desfavorável na escolha do ^{99m}Tc -tricarbonil-voriconazol como agente promissor entre os compostos azólicos no diagnóstico de infecções precoces por *C. albicans*.

3.2. Equinocandinas marcadas com ^{99m}Tc

Os artigos que utilizaram as equinocandinas com finalidade de desenvolver radiotraçadores específicos para diagnóstico de infecções fúngicas utilizaram o precursor ^{99m}Tc -tricarbonil para formação do complexo de marcação. Tanto a caspofungina quanto a anidulafungina são introduzidas ao precursor por meio da substituição das moléculas de água coordenadas. Este método de marcação evita a formação de um produto volumoso e não altera o núcleo lipopeptídeo hexacíclico ou a cadeia lateral de ácido graxo N-acil, estruturas importantes para ação antifúngica. Ambos precursores ^{99m}Tc -tricarbonil foram obtidos com rendimento superior a 90% por Reyes e colaboradores (2014) [10] e El-Kawy e colaboradores (2020) [12]. Tanto a marcação para a obtenção de ^{99m}Tc -tricarbonil-anidulafungina quanto ^{99m}Tc -tricarbonil-caspofungina, envolveu aquecimento em banho maria a uma temperatura de 60°C a 70°C por 30 minutos. Também ocorreu em ambos os complexos o ajuste de pH próximo a 7 utilizando-se tampão fosfato (NaH_2PO_4).

Reyes e colaboradores (2014) [10] observaram que ^{99m}Tc -tricarbonil-caspofungina permaneceu estável em meio de marcação por até 20 horas, com ausência de produtos de degradação. A estabilidade em plasma foi superior a 90% em até 4 horas, porém a ligação a proteínas plasmáticas sofreu diminuição para 70%, diferente da molécula de caspofungina não marcada que pode chegar a > 90% de ligação a proteínas do plasma, diminuição ocasionada pela incorporação do precursor tricarbônico. O mesmo perfil de diminuição de ligação a proteínas plasmáticas foi observado para o complexo ^{99m}Tc -tricarbonil-anidulafungina, porém, a estabilidade da marcação foi de 12 horas, e quando na presença de plasma, permaneceu com estabilidade superior a 90% em até 10 horas.

Na avaliação biológica do complexo ^{99m}Tc -tricarbonil-anidulafungina obteve-se $\sim 6,5\%$ ID/g para a lesão induzida por *C. albicans* e $\sim 5,2\%$ ID/g para lesão induzido por *A. fumigatus*, ambos após 2 horas de injeção do composto. As captações para inflamação estéril ($\sim 1,9\%$ ID/g) e infecção



bacteriana (~1,8% ID/g) demonstram acumulação inespecífica após 2h, o que reflete a capacidade do complexo em diferenciar processo infeccioso bacteriano de processo infeccioso fúngico e inflamação estéril.

3.3. Políenos marcados com ^{99m}Tc

De maneira semelhante aos autores citados anteriormente, Fernandez e Teran (2017) [14] elaboram um complexo com anfotericina B radiomarcada utilizando-se o precursor ^{99m}Tc -tricarbonil, mas também lançaram mão de um precursor de ^{99m}Tc -nitreto que foi obtido após a derivatização da anfotericina B a fim de permitir a formação do complexo. Ambos os precursores apresentaram pureza radioquímica superior a 90%, no entanto, apenas o complexo ^{99m}Tc -tricarbonil apresentou características adequadas para os estudos de biodistribuição em modelo animal.

Para o modelo de infecção *in vitro* desenvolvido por Page e colaboradores (2020) [13] foram utilizadas células em monocamada HPAEC e optaram por modelos infecciosos utilizando-se *A. fumigatus* e *Rhizopus arrizus* (microrganismo responsável pelos quadros de mucormicose). O complexo ^{99m}Tc -anfotericina B foi capaz de reconhecer o foco infeccioso fúngico e de diferenciar do foco bacteriano com *Staphylococcus aureus*. Esse complexo foi obtido em meio de reação com pH 7 com estabilidade em plasma humano em até 4 horas após a marcação.

4. CONCLUSÃO

Os resultados obtidos elucidaram as principais características envolvendo o processo de marcação de antifúngicos tradicionalmente empregados na clínica ressaltando o isótopo ^{99m}Tc , fundamental no direcionamento de estudos **pré-clínicos**. Ainda, a marcação de antifúngicos apresentam importante aplicação na detecção de infecções fúngicas a curto prazo, com destaque para diagnóstico diferencial entre infecções fúngicas e inflamações estéreis.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Pró Reitoria De Pesquisa da Universidade Federal de Minas Gerais (PRPqUFMG), à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] <https://www.who.int/publications/i/item/9789240060241> Acessado em 15/09/2023.
- [2] <https://www.cdc.gov/fungal/antifungal-resistance.html>. Acessado em 07/10/2023.
- [3] N. Robbins, G. D. Wright, L. E. Cowen, Antifungal Drugs: The Current Armamentarium and Development of New Agents. *Microbiology Spectrum*. Vol. 4(5), (2016).
- [4] J. Lai *et al.*, Radiotracer Development for Fungal-Specific Imaging: Past, Present, and Future. *Journal of Infectious Diseases*, Vol. 228, pp. S259-S269 (2023).
- [5] M. Riondato *et al.*, Oldie but Goodie: Is Technetium-99m Still a Treasure Trove of Innovation for Medicine? A Patents Analysis (2000-2022). *Journal of medicinal chemistry*. Vol. 66(7), (2023).



- [6] A. Kurniawan, *et al.*, Drug interaction evaluation of [^{99m}Tc]Tc-ketoconazole uptake with ketoconazole administration in Candidiasis mice model. *Indonesian Journal of Pharmacy*, Vol. 32, no. 1, pp. 106-113 (2021).
- [7] A. Lupetti *et al.*, Detection of fungal infections using radiolabeled antifungal agents, *Current Drug Targets*, Vol. 6 (8), pp. 945-54 (2005).
- [8] A. Lupetti *et al.*, Technetium-99m labelled fluconazole and antimicrobial peptides for imaging of *Candida albicans* and *Aspergillus fumigatus* infections, *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging*, Vol. 29(5), pp. 674-9 (2002).
- [9] D. N. Assis *et al.*, Biodistribution of free and encapsulated ^{99m}Tc-fluconazole in an infection model induced by *Candida albicans*, *Biomedicine & Pharmacotherapy*. Vol. 99, pp. 438-444 (2018).
- [10] A. L. Reyes *et al.*, Development and evaluation of ^{99m}Tc-tricarbonyl-casopofungin as potential diagnostic agent of fungal infections. *Current Radiopharmaceuticals*, Vol. 7(2):144-50 (2014).
- [11] L. Reyes *et al.*, Evaluación biológica de ^{99m}Tc-Voriconazol como potencial agente de diagnóstico de infecciones fúngicas por centellografía gamma, *Alasbimn Journal*, Vol. 14, (2011).
- [12] O. A. El-Kawy, *et al.*, Preparation and evaluation of ^{99m}Tc-anidulafungin: a potential radiotracer for fungal infection, *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, Vol. 325, pp. 683–694 (2020).
- [13] L. Page *et al.*, *In Vitro* Evaluation of Radiolabeled Amphotericin B for Molecular Imaging of Mold Infections, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, Vol. 64(7), pp. e02377-19 (2020).
- [14] L. Fernandez and M.Teran, Development and Evaluation of ^{99m}Tc-Amphotericin Complexes as Potential Diagnostic Agents in Nuclear Medicine, *International Journal of Infection*, Vol. 4, no. e62150 (2017).
- [15] A. J. Fischman *et al.*, Pharmacokinetics of ¹⁸F-labeled fluconazole in rabbits with candidal infections studied with positron emission tomography, *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. Vol. 259 no. pp. 1351-9 (1991).
- [16] R. Alberto, *et al.*, A Novel Organometallic Aqua Complex of Technetium for the Labeling of Biomolecules: Synthesis of [^{99m}Tc(OH)₂]₃(CO)₃]+from [^{99m}TcO₄]-in Aqueous Solution and Its Reaction with a Bifunctional Ligand, *Journal of the American Chemical Society*, Vol. 120, no. 31, pp. 7987–7988 (1998).