

FARMAKODİNAMİK ÇALIŞMALARDA İN VİTRO MODELLER VE HAYVAN MODELLERİ

Murat HÖKELEK

İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İSTANBUL
mhokelek@gmail.com

ÖZET

Farmakokinetik/Farmakodinamik (FK/FD) çalışmalarında kullanılan yöntemler içerisinde in vitro ve in vivo modeller önemli bir yer tutmaktadır. Antibiyotiklerin farmakodinamik özelliklerini tanımlamak için kullanılan birçok in vitro modeller ve deney hayvanı modelleri geliştirilmiştir. İn vitro diyaliz ya da dilüsyon yöntemleri ile oluşturulan çeşitli kinetik modeller, insanlarda görülen değişken antibiyotik konsantrasyonlarının çeşitli bakteriler üzerindeki etkilerini inceleme ve simüle etme özelliğine sahiptir. Hayvanlarda geliştirilen in vivo modeller ise, belirli vücut bölgelerinde oluşturulan enfeksiyonlarda antimikrobial etkinliğini belirleme avantajına sahiptir. Özellikle yeni keşfedilen antimikrobiallerin etkinliğini saptamada bu modellerin yerinde kullanılması, insanlardaki faz çalışmaları için önemli bir yol gösterici niteliğine sahiptir.

Anahtar sözcükler: farmakokinetik, farmakodinamik, hayvan enfeksiyon modelleri, in vitro kinetik modeller

SUMMARY

In vitro Models and Animal Models on Pharmacodynamic Studies

The methods used in the in vitro and in vivo models on Pharmacokinetic / Pharmacodynamic (PK/PD) studies are important place. A lot of in vitro models and laboratory animal models have been developed to characterize the pharmacodynamics for antibiotics. In vitro models using dialysis or dilution have the feature to simulate the varying antibiotic concentrations detected in humans and study their effect on various bacteria. In vivo animal models have the advantage of defining antimicrobial efficacy at particular body sites. Especially, in determining the effectiveness of the newly discovered antimicrobials proper use of these models, is important for guiding the phase studies in humans.

Keywords: animal infection models, in vitro kinetic models, pharmacokinetic, pharmacodynamic

Çeşitli antibiyotiklerin farmakodinamiklerini belirlemek için kullanılmış olan çok sayıda in vitro ve hayvan modelleri vardır. İn vitro çalışmalar, erken dönemde daha çok antimikrobiyal aktivite ve ilaç kinetiği ilgilidir. Hayvan modelleri ise başlangıçta in vivo antibiyotik aktivitesi yerine ilaç dozu için en uygun yolu belirlemek için kullanılmıştır. Bu araştırmalarda anlamlı sonuçlar geliştirmek için dikkate alınması gereken önemli faktörler bulunmaktadır. Bunlar arasında inokulum, besiyeri, mikroorganizmanın büyüme fazı, enfeksiyon bölgesi, doğru ilaç maruziyetini ölçmek için ilaç konsantrasyonları, deney hayvanının bağışıklık durumu, yaşama/ölüm oranı ve koloni oluşturulan birim (CFU) ile sonucun ölçülmesi, sayılabilir⁽⁵⁾.

İn Vitro Modeller

İlk in vitro çalışmalarda farklı antimikrobiyallerin artan konsantrasyonlarında bakterisidal etkisi, öldürme eğrileri kullanılarak saptanmıştır. Örneğin 1940'larda, streptomisin ve penisilin kullanılarak *Staphylococcus aureus* ile yapılan çalışmalarda, streptomisin konsantrasyonunun 10 ve 100 kat artırılmasıyla yüksek konsantrasyonlarda çok daha hızlı öldürme etkisi ortaya konmuştur. Bunun yanında, penisilin konsantrasyonunu 10, 100, 1000 ve 10000 kat artırmanın bakterisidal aktivite oranını arttırmadığı da saptanmıştır. Böylece ilaçların sınıflandırılmasında konsantrasyona bağımlı ve konsantrasyondan bağımsız öldürme kavramları gündeme gelmiştir⁽³⁾.

Kalıcı Etkiler

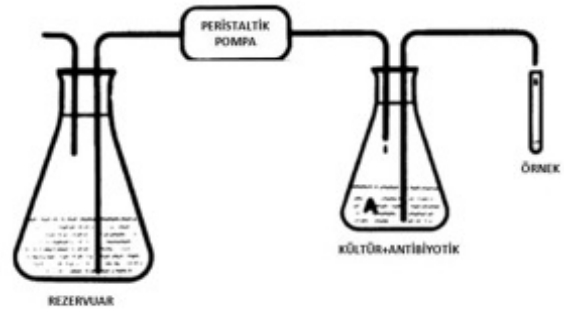
Kalıcı etkiler, postantibiyotik etki (PAE) ve postantibiyotik lökosit etki artışı (PALE) olarak tanımlanmaktadır. PAE, antibiyotik ortamdan çekildikten sonra bakteri büyüme kinetiğinin normale dönme zamanı gözlenerek bulunmaktadır. Ölçüt olarak bakteri sayısına göre hesaplandığında $PAE=T-C$ formülü kullanılmaktadır. Burada T değeri antibiyotikle temastan sonra yıkanan kültürdeki bakteri sayısının $1 \log_{10}$ artması için gereken süredir.

İn vitro postantibiyotik etkinin (PAE) ölçülmesi için kullanılan standart yöntem, mikroorganizmayı bir kaç saat boyunca etkin ilaç konsantrasyonuna maruz bırakmak ve daha sonra hızlı bir şekilde yıkama, dilüsyon, filtrasyon ya da ilaç inaktivasyonu uygulamaktır⁽⁴⁾. Araştırmacılar çoğunlukla, ilacı ortamdan uzaklaştırma yöntemi olarak dilüsyonu kullanmışlardır. Genellikle 100 kat dilüsyon, MİK değerine yakın konsantrasyonlar için yeterlidir; 1000 ve 10000 misli dilüsyonlar yüksek konsantrasyonlarda gerekmektedir. Tekrarlayan yıkama prosedürleri, santrifüj işleminden sonra görünür bir pelet olup olmadığına bağlıdır. Filtrasyon işlemi için $0,45 \mu m$ veya daha küçük por çapına sahip bir membran filtre gerekmektedir. İlaç inaktivasyonu, beta-laktamaz ile hızlı bir şekilde yok olan beta-laktamlar için en uygun yöntemdir. Koloni oluşturan birim (CFU) ölçümü ilaç uzaklaştırıldıktan sonra, mikrobiyal çoğalma kinetiklerini takip etmek için kullanılan birincil yöntemidir.

PAE, ilaç grupları ve Gram-pozitif veya Gram-negatif bakterilere karşı değişkenlik göstermektedir. Tüm antimikrobiyaller duyarlı gram-pozitiflere karşı bir-iki saat süreyle PAE oluşturmaktadır. Gram-negatiflerde ise protein sentez ve nükleik asit inhibitörleri PAE'nin uzamasına neden olmaktadır. Bu antimikrobiyaller arasında aminoglikozidler, florokinolonlar, makrolidler, kloramfenikol ve rifampin sayılabilir. Beta-laktam grubundakiler gram-negatiflere karşı belirgin PAE'ye yol açmamaktadırlar. Ancak karbapenemlerin *Pseudomonas aeruginosa*'ya gösterdikleri PAE uzaması gibi istisnai durumlar da vardır^(5,12).

İn Vitro Kinetik Modeller

İn vitro ilaç konsantrasyonlarını azaltmak için dilüsyon kullanılarak oluşturulan kinetik modeller 1970'lerin sonlarında kullanılmaya başlamıştır. Grasso ve arkadaşları tarafından oluşturulan basit model iki cam düzenekten oluşuyordu (Şekil). Çalışmada rezervuar bir erlenmayer içinden, peristaltik pompa ile, antibiyotik ve mikroorganizma içeren ikinci bir erlenmayer içine pompalayarak dilüsyon oluşturulmuş ve sefalosporinlerin etkinliği değerlendirilmiştir⁽⁹⁾. Dilüsyon modellerinde amaç sadece ilaç konsantrasyonlarının seyreltilmesi değil, aynı zamanda mikroorganizmayı da seyreltmektir. Bu durum, 30-60 dakika arasında çok hızlı bir yarı-ömre sahip ilaçlar için bir sorun olabilir ve ölçülen CFU/ml'nin dilüsyonun artışı açısından düzeltilmesi gerekmektedir⁽⁵⁾.



Şekil. İn vitro ilaç konsantrasyonlarını azaltmak için dilüsyon kullanılarak oluşturulan kinetik model örneği⁽⁹⁾.

İki sıvı kompartmanını ayırmak için bir geçirgen membran veya içi boş lifler kullanılarak diyaliz modelleri 1980'lerin başında ortaya çıkmaya başlamıştır. Diyaliz modelleri aynı zamanda, farklı eliminasyon yarılanma ömürlerine sahip ilaç kombinasyonlarının etkilerini incelemek için tasarlanmıştır. Başlangıçta bu modeller farklı dozaj rejimlerinin etkinliğini karşılaştırmak için kullanılmıştır. Dayanıklı alt popülasyonlarının ortaya çıkması, ilacın günde bir kez verilmesi ile değil, daha düşük dozlarında günde üç kez verilmesi ve sürekli infüzyon ile gözlenmiştir. Benzer şekilde, seftazidimin sürekli infüzyonu ile geliştirilmiş bakterisidal etkinliği üzerine, ilacın aralıklı dozlama kullanılarak uygulandığı bir in vitro model de bildirilmiştir. İn vitro kinetik modeller, direnç ortaya

çıkmasını destekleme ya da önleme faktörlerini incelemek için idealdir. Bu modellerde kullanılan mikroorganizma sayısı, bir çok hayvan infeksiyon modellerinden çok daha fazladır. Bu nedenle in vitro modellerde, az sayıdaki dirençli bakteri saptama yeteneği hayvan modellerine göre daha yüksektir^(5,12).

Bu çalışmalarda çeşitli farklı sıvı besiyerleri kullanılmıştır. Bunların çoğu bakteri büyümesi için çok iyi bir ortam sağlamaktadır. Hayvan modellerinde de görüldüğü gibi, aynı bakteriyel çoğalma oranını incelemek için, toplam besiyeri hacminin sıvı miktarını % 5 azaltmak gerekir. Bazı araştırmacılar bağlayıcı proteinin etkisini simüle etmek için ortama % 5 insan albümini veya % 25 insan serumu eklemektedir. Bu in vitro modellerde, insan albümin serumu veya eklenmesi, yüksek protein bağlayıcı olan ilaçların etkinliğini azaltmaktadır⁽¹⁵⁾.

Bu araştırmaların çoğunda kullanılan inokulum genellikle 10^5 - 10^6 CFU/ml olmuştur. Florokinolon grubu antibiyotikler için yapılan çalışmalar, 10^9 CFU/ml inokulumu kadar bile aktivitede çok fark olmadığını göstermiştir. Ancak, beta-laktamlar, çok yüksek inokulum kullanıldığında aktivitede önemli bir azalma göstermişlerdir^(5,11). İn vitro kinetik modellerde *S.aureus* ve *E.coli*'ye karşı fluorokinolonların aktivitesi, aerobik ve anaerobik kültürlerdekine benzer olduğu gözlemlenmiştir^(5,13).

Kinetik modellerde çeşitli farklı değerlendirme teknikleri kullanılmıştır. Aynı anda multipl doz rejimlerinin değerlendirilmesi, etkinlik ve direnç bastırılması için önemli bir FK/FD indeksi belirleyebilir. Linezolid için *Bacillus anthracis*'e karşı bakterisidal etkinliğini belirleyen en önemli FK/FD indeksi AUC/MİK iken, baskılanmış direnç açısından C_{max} /MİK daha önemlidir. Duyarlı suşların bulunduğu ortama dirençli mikroorganizmaların düşük miktarda eklenmesi, direncin ortaya çıkmasını önleme açısından yeni bir dozaj rejiminin değerini saptamada kullanılabilir. Genel olarak, in vitro modeller ile kaydedilen bulguların çoğu hayvan infeksiyon modellerinde de doğrulanmıştır. Bu nedenle in vitro kinetik modeller antibakteriyellerin farmakodinamik değerlendirilmesi için oldukça güvenilir yöntemler olarak karşımıza çıkmaktadır⁽¹⁴⁾.

Hayvanlarda İnfeksiyon Modelleri

İn vitro kinetik modeller ile hayvan infeksiyon modelleri arasında bazı farklılıklar vardır. Hayvan modellerinde belirli vücut bölgelerinde oluşan infeksiyonlar gözlenebilmektedir. Hayvan modelleri aynı zamanda protein bağlama, kompleman ve lökositler gibi farklı konak faktörlerin etkisini de değerlendirebilmektedir. Farmakodinamik çalışmalar için kullanılan başlıca hayvan modelleri, antibiyotikleri insanlardan daha hızlı elimine eden fare ve sıçan modellerini içermektedir. Antibiyotik tedavisinin insandaki farmakokinetiklerini simüle etmek için çoğunlukla sıçan modellerinde olmak üzere intravenöz kateterler kullanılmıştır. Bunun yanında, insanlarda bir ilacın serum profilini simüle etmek için, ilacın birden fazla azalan dozları, farelere subkutan olarak da verilmiştir. İlacın belirgin renal eliminasyonunu belirlemede, tedaviden 3 gün önce deney hayvanına 5-10 mg/kg uranil nitrat verilmesi, insanlarda bu ilaçların yarı ömrünü simüle etmek açısından, geçici böbrek yetmezliğine neden olur^(5,2). İnfeksiyon hastalıklarında deneysel kemoterapinin hayvan modellerindeki sınırlamaları ve uygulamaları Tablo'da özetlenmiştir.

FK/FD Çalışmalarında Uygulanan Bazı Modeller

Farede Peritonit/Sepsis Modeli

Bu modelde genellikle outbred 20-30 gr herhangi bir fare suşu (örn. Swiss albino, Swiss Webster) kullanılabilir. En fazla 10 dakika sürecek bir anestezi yeterlidir. Seçilen bakterinin inokülasyonu intraperitoneal (IP) olarak enjektörle yapılmalıdır. Kan örneği alınırken az miktarlar için periorbital ven veya kuyruk veni seçilmeli, 1-1,5 ml kadar alınacaksa kardiyak ponksiyon ya da aksiller cutdown yapılmalıdır. Periton sıvısı almadan önce 2 ml steril serum fizyolojik (SF) enjekte edilmeli, sonra steril şartlarda periton açılarak pipetle örnek alınmalıdır. Bu modelde farklı mikroorganizmalar ve antibiyotikler için FK/FD araştırmaları yapılabilir^(2,10).

Tavşanda Shigellosis Modeli

Yaklaşık 2-2,5 kg ağırlığında New Zealand

Tablo. İnfeksiyon hastalıklarında deneysel kemoterapinin hayvan modellerindeki sınırlamaları ve uygulamaları.

Model tipi	Avantajları	Dezavantajları	Primer kullanışı
Fare sepsis modelleri (Temel tarama modelleri)	Basitlik, tanımlanmış son nokta, çok değişik veriş yolu imkanı	İlacın tedavi aktivitesine karşı olarak belirlenmiş profaktik aktivitesi	Antimikrobiyal aktivitenin primer endikasyonu
Mono/parametrik modeller	Tek bir parametrenin belirlenmesi, örn. infeksiyon sahasına antibiyotik penetrasyonu veya mikroorganizma öldürme etkisi insanlardan kolaylıkla ve etik olarak elde edilemez		Antimikrobiyal ajanların etkinliğinin tam endikasyonu
Ex-vivo modeller	Kolay ulaşılan bölgelerde antibiyotik penetrasyonu ve sonuçta mikroorganizma öldürme etkisinin kolay belirlenmesi	Olası yapay enflamasyon ile sınırlanmış alanlar	Farmakokinetik ve mikrobisidal özelliklerin belirlenmesi
Ayırdedici modeller	İnsanlardaki infeksiyona yakın benzerlik	Karışık modeller değerlendirilen bileşiklerin sayısını kısıtlar	Bileşiklerin insanlardaki endikasyonlarını tanımlamak

tavşanlar bu model için idealdir. Diyare etkeni başka mikroorganizmalardan arınmış olması önemlidir. Ketamin anestezisi yapıldıktan sonra steril plastik sonda ile tavşanın midesine ulaşılır ve brain-heart infüzyon broth içerisindeki Shigella süspansiyonundan 15 ml verilir. Bu esnada intestinal motiliteyi azaltmak ve kolonizasyonu kolaylaştırmak için IP olarak 10 mg morfin yapılır. Sırasıyla tavşanın davranışları, gaita içeriği, kan - gaita kültürü ve ileum patolojisi değerlendirilir. Genellikle diare 24 saat sonra oluşur. Bu model shigella suşunun oluşturduğu fizyopatolojinin açıklanmasında ve antibiyotik etkinliği çalışmalarında kullanılır⁽⁸⁾. Tavşanlarda farklı enterik infeksiyon modelleri de çalışılmıştır⁽¹⁷⁾.

Farede *Helicobacter pylori* İnfeksiyon Modeli

Bu modelde outbred CD1 ve inbred BALB/c, C57BL/6, DBA/2 gibi suşlar kullanılabilir. Öncelikle bu tür deneylerde fareler için adapte edilmiş *H.pylori* suşu kullanmak gereklidir. Hazırlanan süspansiyonda her fareye verilecek 0,1-0,2 ml'de 10⁹ bakteri bulunmalıdır. Gavaj yoluyla intragastrik olarak verilmeye kadar buzda saklanmalı ve hazırlandıktan sonra 15-20 dakika içinde verilmelidir. Farelere inokülasyon sonrası 2-3 saat hiçbir şey yedirilmemelidir. Bakteri inokülasyonu bir hafta boyunca gūnaşırı 3 kez tekrarlanmalıdır. Sakrifiye edilen

hayvanların midesi duodenumla birlikte çıkarılır, kültür için ekim yapılır. Histopatolojik olarak da değerlendirilir. Ayrıca immünolojik parametrelere de bakılabilir. Patogenezin açıklanmasında, kemoterapötik ajanların denenmesinde ve aşı çalışmalarında uygulanabilir bir modeldir^(2,7).

Farede Tüberküloz Modeli

Fareler çok yönlü ve esnek modeller oluşturulabildiği için deneysel tüberkülozda tercih edilir. C57BL/6 gibi tüberküloza dirençli bir çok fare türünde, infeksiyon sonrası yaşına bağlı olarak akciğerlerde kademeli ilerleyen granülomlar, buna eşlik eden mikronekrozlar ve yaygın fibrozis oluşur. İnfeksiyon etkeni, deri altı inokülasyonu, intravenöz ve aerosol gibi değişik yollarla verilebilir. Bu modelde potansiyel etkili yeni ilaçlarda FK/FD, kazanılmış tüberküloza karşı denenebilir. Ayrıca immünolojik parametreler de değerlendirilebilir. Bu amaçlarla immünyetmezlik oluşturulan fareler de kullanılabilir⁽¹⁸⁾.

Farede Pneumococcal Pnömoni Modeli

Bu model için 18-22 g ağırlığında Swiss, CBA/J, C57BL/6J türü fareler kullanılabilir. IP yoldan verilen sodium phenobarbital anestezisi sonrası peroral olarak künt bir metal iğne (22-23 G) ile trakeaya girilir. Bu işlemin daha rahat yapılabilmesi için fare ön üst dişlerinden, ayak-

ları zeminden kesilmemek kaydıyla, gerilmiş bir ipe asılarak pozisyon verilir. Trakeaya girişi hissettikten sonra *Streptococcus pneumoniae* içeren süspansiyondan mikroenjektörle 40-50 µl verilir. Bakterilerin alveollere gidebilmesi açısından hayvan aynı pozisyonda 5 dakika kadar tutulur. Çalışmadan 5 gün öncesinde siklofosamid verilerek lökopeni oluşturulabilir. Ayrıca "kobra venom faktör" enjeksiyonu ile kompleman düzeyi düşürülebilir. Bu modelde, farmakokinetik, farmakodinamik ve antimikrobiyal tedaviye yönelik çalışmalar uygulanabilir⁽⁶⁾.

Erişkin Ratlarda Meningitis Modeli

Ratlarda meningitis modeli için Wistar veya Sprague-Dawley suşları kullanılır. İntramüsküler ketamin injeksiyonu ile anestezi yapıldıktan sonra dorsal yüzü yukarı gelecek şekilde sabitlenir. Boyun bölgesi traşlanır ve temizlenir. Boyundaki sisterna magna kısmından yavaşça fleksibl kateterle (25 G) subaraknoid boşluğa girilir. İğnesi çekilip bir miktar (yaklaşık 75 µl) BOS alınır. Bakteri (*S.pneumonia* veya *H.influenza*) içeren PBS süspansiyonundan kateter tüpüne takılan tüberkülin enjektörü ile 50 µl (5×10^6) kadar verilir. Bu modelde antibiyotiklerin etkinliği çalışılabileceği gibi patogeneze, inflamatuvar ve immün cevap da değerlendirilebilir^(1,2).

Leptospirosis'te Hayvan Modelleri

DeneySEL leptospirosis oluşturmada çeşitli hayvan türleri kullanılmıştır. Syrian hamsterleri bu infeksiyon için sık olarak kullanılır. Bakteri süspansiyonu IP olarak verilir. Değişik suşlarla oluşturulan infeksiyonda patogeneze, patoloji, immünolojik parametreler ve tedavi çalışmaları yapılabilir. Bunun yanında Guinea-pig, rat, gerbil ve köpek gibi deney hayvanları da değişik leptospirosis çalışmalarında kullanılmıştır⁽¹⁶⁾.

Sonuç olarak, in vitro modeller ve in vivo hayvan modelleri, ilaçlarla ilişkili bir çok FK/FD çalışmalarında olduğu gibi, antimikrobiyal için de vazgeçilmez niteliktedir. Özellikle yeni antibiyotiklerin etkinliğini saptamada bu modellerin uygun şekilde kullanılmasının, faz çalışmaları için en önemli yol gösterici olmaya devam edeceği anlaşılmaktadır.

KAYNAKLAR

1. Buster BL, Weintrob AC, Townsend GC, Scheld WM. Potential role of nitric oxide in the pathophysiology of experimental bacterial meningitis in rats, *Infect Immun* 1995;63(10):3835-9.
2. Carbon C, Fantin B, O'Reilly T. Bacterial Infection Models, "Zak O, Sande M. (eds). Handbook of Animal Models of Infection", kitabında, s.125-639 Academic Press, New York (1999).
3. Craig W. Pharmacodynamics of antimicrobial agents as a basis for determining dosage regimens, *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1993;12(Suppl 1):S6-8.
<http://dx.doi.org/10.1007/BF02389870>
4. Craig WA, Gudmundsson S. Postantibiotic effect (Chapter 8), "Lorian V (ed). Antibiotics in laboratory medicine, 4th edn." kitabında s.296-329, Williams and Wilkins, Baltimore, MD (1996).
5. Craig WA. In Vitro and Animal PK/PD Models, "Vinks AA, Derendorf H, Mouton JW (eds). Fundamentals of Antimicrobial Pharmacokinetics and Pharmacodynamics, 1.baskı" kitabında s.23-44, Springer, New York (2014).
6. Darras-Joly C, Bedos JP, Sauve C et al. Synergy between amoxicillin and gentamicin in combination against a highly penicillin-resistant and -tolerant strain of *Streptococcus pneumoniae* in a mouse pneumonia model, *Antimicrob Agents Chemother* 1996;40(9):2147-51.
7. Elizalde JI, Gomez J, Panes J et al. Platelet activation in mice and human *Helicobacter pylori* infection, *J Clin Invest* 1997;100(5):996-1005.
<http://dx.doi.org/10.1172/JCI119650>
8. Etheridge ME, Hoque AT, Sack DA. Pathologic study of a rabbit model for shigellosis, *Lab Anim Sci* 1996;46(1):61-6.
9. Grasso S, Meinardi G, de Carneri I, Tamassia V. New in vitro model to study the effect of antibiotic concentration and rate of elimination on antibacterial activity, *Antimicrob Agents Chemother* 1978; 13(4):570-6.
<http://dx.doi.org/10.1128/AAC.13.4.570>
10. Knudsen JD, Frimodt-Moller N, Espersen F. Experimental *Streptococcus pneumoniae* infection in mice for studying correlation of in vitro and in vivo activities of penicillin against pneumococci with various susceptibilities to penicillin, *Antimicrob Agents Chemother* 1995;39(6):1253-8.
<http://dx.doi.org/10.1128/AAC.39.6.1253>
11. Korten V, Mülazımoğlu L. Farmakokinetik ve farmakodinamik parametrelerin önemi, "Arman D, Ulusoy S (eds). Enfeksiyon Hastalıkları Tedavi

- Dizisi: Alt Solunum Yolu enfeksiyonlarının Tedavisi”, kitabında, s.15-24, Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara (2004).
12. Korten V, Mülazımoğlu L. Farmakokinetik/ Farmakodinamik ve Antibiyotik Direnci, *Türkiye Klinikleri J Inf Dis-Special Topics* 2011;4(1):32-6.
 13. Korten V. Antibiyotiklerin Farmakokinetik ve Farmakodinamik Özellikleri, “Numan Ekim, Eyüp Sabri Uçan (eds). Solunum Sistemi İnfeksiyonları” kitabında, s.165-71, Toraks Derneği Kitapları, İstanbul (2001).
 14. Louie A, Vanscoy BD, Heine HS 3rd et al. Differential effects of linezolid and ciprofloxacin on toxin production by *Bacillus anthracis* in an in vitro pharmacodynamic system, *Antimicrob Agents Chemother* 2012;56(1):513-7.
<http://dx.doi.org/10.1128/AAC.05724-11>
 15. MacGowan AP, Noel AR, Tomaselli S, Elliott HC, Bowker KE. Pharmacodynamics of telavancin studied in an in vitro pharmacokinetic model of infection, *Antimicrob Agents Chemother* 2011; 55(2):867-73.
<http://dx.doi.org/10.1128/AAC.00933-10>
 16. Oliva R, Infante JF, Gonzalez M et al. Pathologic-clinical characterization of leptospirosis in a golden Syrian hamster model, *Arch Med Res* 1994; 25(2):165-70.
 17. Russell RG, Tall BD, Morris JG Jr. Non-O1 *Vibrio cholerae* intestinal pathology and invasion in the removable intestinal tie adult rabbit diarrhea model, *Infect Immun* 1992;60(2):435-42.
 18. Turner J, Gonzalez-Juarrero M, Saunders BM et al. Immunological basis for reactivation of tuberculosis in mice, *Infect Immun* 2001;69(5):3264-70.
<http://dx.doi.org/10.1128/IAI.69.5.3264-3270.2001>