

**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

DOKTORA TEZİ

**FARKLI TİLMİKOSİN PREPARATLARININ
KOYUNLARDA BİYOEŞDEĞERLİLİK YÖNÜNDEN
İNCELENMESİ**

ELİF ŞAHİN

**DANIŞMAN
PROF. DR. MURAT YILDIRIM**

**FARMAKOLOJİ VE TOKSİKOLOJİ ANABİLİM DALI
FARMAKOLOJİ VE TOKSİKOLOJİ PROGRAMI**

İSTANBUL-2012

TEZ ONAYI

(Bu sayfa yerine, başarılı geçen Tez Sınavı sonrası sınav tutanağı ekinde yer alan Tez Onay sayfası gelecektir.)

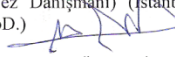
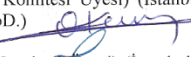


TEZ ONAYI

İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı Farmakoloji ve Toksikoloji Programında Elif ŞAHİN tarafından hazırlanan Farklı Tilmikosin Preparatlarının Koyunlarda Biyoşedeğerlilik Yönünden İncelenmesi başlıklı Doktora tezi, yapılan tez sınavında Jürimiz tarafından başarılı bulunarak kabul edilmiştir.

14 / 02 / 2012

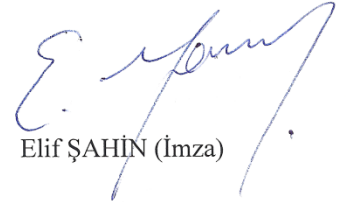
Tez Sınav Jürisi

Ünvanı Adı Soyadı (Üniversitesi, Fakültesi, Anabilim Dalı) _____ İmzası

1. Prof. Dr. Murat YILDIRIM (Tez Danışmanı) (İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Abd.) 
2. Prof. Dr. Oya ÜSTÜNER (Tez Komitesi Üyesi) (İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Abd.) 
3. Prof. Dr. Utku BAKIREL (Tez Komitesi Üyesi) (İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları Abd.) 
4. Prof. Dr. Bünyamin Traş (Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Abd.) 
5. Prof. Dr. Muammer ELMAS (Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Abd.) 

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmayla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarımı ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.



Elif ŞAHİN (İmza)

İTHAF

“Babam Nurettin YAMAN ve annem Sevil YAMAN'a ithaf ediyorum“

TEŞEKKÜR

Bu araştırmanın gerçekleştirilmesi sırasında bilimsel yardım ve desteklerini esirgemeyen Tez Danışmanım Prof. Dr. Murat YILDIRIM başta olmak üzere, Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Oya ÜSTÜNER'e, Prof. Dr. Tülay BAKIREL'e, Prof. Dr. Utku BAKIREL'e; çalışma arkadaşlarım Araş. Gör. Dr. Fulya ÜSTÜN ALKAN ve Araş. Gör. Ceren ANLAŞ'a,

Çalışmanın deneysel aşamasında büyük yardımlarını gördüğüm meslektaşlarım Araş. Gör. Dr. Lora KOENHEMSİ, Vet. Hek. Kaan DÖNMEZ, Vet. Hek. Kuddusi EROL, Vet. Hek. Selçuk ERDOĞAN, Vet. Hek. Kubilay KILIÇASLAN ve Vet. Hek. Eyüp ÖZRENK'e,

Farmakokinetik hesaplamalar için bana kapılarını açan ve büyük destek veren Prof. Dr. Muammer ELMAS başta olmak üzere, Dr. Kamil ÜNEY ve Araş. Gör. Feray ALTAN ve Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı öğretim üye ve elemanlarına,

İstatistiksel hesaplamalardaki yardımlarından dolayı Doç. Dr. Bülent EKİZ'e,

Çalışmalarım sırasında daima yardımlarını ve desteğini esirgemeyen değerli eşim Burak ŞAHİN'e, ve kızım Rüzgar ŞAHİN'e

Beni yetiştiren ve bugünlere getiren aileme teşekkür ederim.

Doktora eğitimim süresince aldığım "2211 Yurt İçi Doktora Bursu" için TÜBİTAK BİDEB' e teşekkür ederim.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No:3583

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	İİ
BEYAN	İİİ
İTHAF	İV
TEŞEKKÜR.....	V
İÇİNDEKİLER	VI
TABLolar LİSTESİ	İX
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	X
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	Xİ
ÖZET	Xİİ
ABSTRACT.....	Xİİİ
1. GİRİŞ VE AMAÇ	14
2. GENEL BİLGİLER.....	17
2.1. Biyoyararlanım	17
2.2. Biyoeşdeğerlik	18
2.2.1. Biyoeşdeğerlik İncelemelerinin Gerekliliğinin Saptanması (27)	21
2.2.2. Biyoeşdeğerlik İncelemelerinin Genellikle Gerekmediği Durumlar	22
2.2.3. Biyoeşdeğerlik Çalışma Tipleri	23
2.2.4. Tek Doz Biyoeşdeğerlik Çalışmalarının Tasarımı.....	24
2.2.4.1. Hayvanlar.....	24
2.2.4.2. Deneme Şartları.....	25
2.2.4.3. Araştırılacak Karakteristikler	25
2.2.4.4. Referans ve Test Ürünün Seçimi.....	25
2.2.4.5. Doz Seçimi ve Uygulama Yolu	26
2.2.4.6. Örnekleme.....	26
2.2.4.7. Örneklerin Analizi.....	27
2.2.5. Tek Doz Biyoeşdeğerlik Çalışmalarında Veri Analizi.....	28
2.2.6. Biyoeşdeğerlik Değerlendirmesinde Kullanılan Önemli Parametreler.....	30
2.2.7. Biyoeşdeğerlik İçin Karar Verme Ölçütleri ve Kabul Edilebilir Limitler.....	31
2.2.8. İstatistiksel Veri Analizi.....	32
2.3. Tilmikosin	33

2.3.1. Tarihçe.....	33
2.3.2. Yapısal Özellikleri	33
2.3.3. Antibakteriyel Spektrumu ve Endikasyon Alanı	34
2.3.4. Etki Şekli	37
2.3.5. Antiinflamatuvar Etkinlik.....	38
2.3.6. Bakteriyel Direnç Gelişimi.....	39
2.3.7. Farmakokinetik Özellikler ve Kalıntı.....	39
2.3.8. Farmakodinamik Özellikler.....	42
2.3.9. Yan Etkiler.....	43
2.3.10. Farmasötik Şekiller ve Sağaltım Dozu.....	45
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	47
3.1. Hayvanlar	47
3.2. İlaçlar	48
3.3. İlaçların Uygulanması.....	48
3.4. Örneklerin Toplanması	48
3.5. Kimyasal Maddeler.....	48
3.6. Kullanılan Alet ve Malzemeler	48
3.7. HPLC Sistem ve Mobil Faz	49
3.8. Deney Prosedürü.....	49
3.9. Amonyum Format (0,1 M) Çözeltisinin Hazırlanması.....	50
3.10. Mobil Fazın Hazırlanması.....	50
3.11. Standart Solüsyonların Hazırlanması.....	50
3.12. Ekstraksiyon Yöntemi.....	50
3.13. Yöntemin Validasyonu	51
3.13.1. Kalibrasyon Eğrisi ve Doğrusallık (Calibration Curve and Linearity)	52
3.13.2. Kesinlik ve Doğruluk (Precision and Accuracy)	52
3.13.3. Saptama Limiti (Limit of Detection) ve Kantitasyon Limiti (Limit of Quantitation) belirlenmesi.....	52
3.13.4. Geri Kazanım (Recovery).....	52
3.13.5. Stabilité.....	52
3.14. Farmakokinetik Verilerin Analizi.....	52
3.15. İstatistiksel Analiz	53
4. BULGULAR.....	54

4.1. İlaçların Etken Madde Miktarına Ait Bulgular	54
4.2. Serumda Tilmikosin Konsantrasyonunu Saptamak Amacıyla Kullanılan Yöntemin Validasyonuna Ait Bulgular	54
4.2.1. Kalibrasyon Eğrisi ve Doğrusallık.....	54
4.2.2. Kesinlik ve Doğruluk	55
4.2.3. Saptama ve Kantitasyon Limiti.....	57
4.2.4. Geri Kazanım.....	57
4.2.5. Stabilite.....	58
4.3. İlaç Uygulaması.....	58
4.4. Farmakokinetik Veriler	58
5. TARTIŞMA	62
KAYNAKLAR	68
ETİK KURUL KARARI.....	80
ÖZGEÇMİŞ.....	81

TABLULAR LİSTESİ

Tablo 2-1: İlaç uygulama çizelgesi	24
Tablo 2-2: Bazı ülkelerde kabul edilen biyoeşdeğerlik sınırları.....	32
Tablo 2-3: Tilmikosine ait bazı MİK ₉₀ değerleri.....	35
Tablo 2-4: Sağlıklı ve hasta koyunlarda tilmikosinin farmakokinetiği.....	40
Tablo 2-5: Tilmikosinin çeşitli hayvan türlerindeki farmakokinetik verileri	40
Tablo 2-6: Tilmikosinin maksimum kalıntı limitleri	42
Tablo 2-7: Avrupa’da tilmikosin preparatlarının kullanımı	46
Tablo 3-1: Gruplara göre canlı ağırlık dağılımı	47
Tablo 4-1: 1 µg/ml konsantrasyonundaki Tilmikosine ait Gün içi ve Günler arası Değişkenlikler	56
Tablo 4-2: Deri altı yolla uygulanan ve tilmikosin fosfat içeren orijinal ve jenerik preparatlara ait farmakokinetik parametreler.....	60
Tablo 4-3: Jenerik ilacın Orijinal ilaca göre biyoeşdeğerliği	61
Tablo 5-1: Koyunlarda 10 mg/kg dozda deri altı yolla tilmikosin uygulaması ile elde edilen farmakokinetik veriler	63

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1: Tilmikosinin kimyasal yapısı.....	34
Şekil 2-2: Tilmikosin'in <i>Pasteurella multocida</i> için MİK dağılımları "	36
Şekil 2-3: Tilmikosin'in <i>Pasteurella haemolytica</i> için MİK dağılımları	36
Şekil 2-4: Makrolid grubu antibiyotiklerin etki bölgesi	38
Şekil 3-1: Ekstraksiyon İşlemi Akış Şeması.....	51
Şekil 4-1: Tilmikosin standart solüsyonlarından elde edilen kalibrasyon eğrisi ve doğrusallık	54
Şekil 4-2: Tilosin standart solüsyonlarından elde edilen kalibrasyon eğrisi ve doğrusallık	55
Şekil 4-3: 1µg/ml konsantrasyonda tilmikosin standart içeren kromatogram	56
Şekil 4-4: Kör Kromatogram	57
Şekil 4-5: 1 µg/ml tilmikosin standardı eklenmiş serum örneğinden elde edilen kromatogram.....	58
Şekil 4-6: Tilmikosinin tek doz deri altı uygulamasını takiben orijinal ve jenerik preparatlardan elde edilen ortalama ± (standart hata) serum konsantrasyon- zaman eğrisi (n= 20).....	59
Şekil 4-7: Tilmikosinin tek doz deri altı uygulamasını takiben orijinal ve jenerik preparatlardan elde edilen yarı- logaritmik ortalama ± (standart hata) serum konsantrasyon- zaman eğrisi (n= 20).....	59

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

FDA: Amerikan İlaç ve Gıda Ajansı

EMA: Avrupa İlaç Ajansı

VICH: Veteriner Tıbbi Ürünlerin Tescili için Teknik Gereksinimlerin Uyumlaştırılması üzerine Uluslar arası İşbirliği

EUCAST: Antimikrobiyal Duyarlılıkları Testi Avrupa Komitesi

HPLC: Yüksek Basıncılı Likit Kromatografi

MKL: Maksimum Kalıntı Limiti

MIK: Minimum İnhibitör Konsantrasyon

EAA: Eğri Altında kalan Alan

C_{max}: Maksimum plazma konsantrasyonu

t_{max} : Maksimum plazma konsantrasyonuna ulaşma zamanı

t_{1/2}: Yarılanma Ömrü

MRT: Ortalama kalış süresi

RBC: Eritrosit

WBC: Lökosit

ÖZET

Şahin E. Farklı Tilmikosin Preparatlarının Koyunlarda Biyoeşdeğerlilik Yönünden İncelenmesi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmakoloji ve Toksikoloji ABD. Doktora Tezi. İstanbul. 2012.

Bu çalışmanın amacı, tilmikosin fosfat içeren bir jenerik ilacın koyunlarda tek doz (10 mg/kg) deri altı yolla uygulama sonrasında biyoeşdeğerliğini değerlendirmektir. Çalışmada 20 adet Kıvrıcık ırkı koyun kullanıldı. Çalışma çapraz dizayn esasına göre gerçekleştirildi. İlaç uygulaması öncesinde 0. dakika ve sonrasında 15., 30. dakika ile 1., 2., 3., 4., 6., 8., 12., 24., 48., 72. ve 96. saatlerde kan örnekleri toplandı. Serum tilmikosin düzeyleri, ekstraksiyon işlemi sonrasında yüksek basınçlı likit kromatografisinde (HPLC) ölçüldü. Her hayvan için ayrı ayrı serum konsantrasyon – zaman grafikleri çizildi ve farmakokinetik parametreler non-kompatmantal model analizi kullanılarak hesaplandı. Biyoeşdeğerlik değerlendirilmesinde $EAA_{(0-72)}$ ve C_{max} parametreleri temel alındı. Parametrelerin logaritmik dönüşümü yapıldıktan sonra %90 güven aralığına göre biyoeşdeğerlik için kabul edilebilir sınırlar arasında (% 80 - %125) olup olmadığı belirlendi. Jenerik ilacın $EAA_{(0-72)}$ ortalaması % 105,66 ; C_{max} ortalaması ise % 106,55 olarak saptandı. Bu çalışma sonuçlarına göre jenerik ilacın orijinal ilaca biyoeşdeğer olduğu belirlendi.

Anahtar Kelimeler : Biyoeşdeğerlik, tilmikosin, koyun, jenerik

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 3583

ABSTRACT

Şahin E..The bioequivalence determination of different tilmicosin preparations in sheep. İstanbul University, Institute of Health Science, Department of Pharmacology and Toxicology . Doctoral Thesis. İstanbul. 2012.

The aim of this study to evaluate of the bioequivalence of a generic preparation contain of tilmicosin phosphate, after the subcutan injection (s.c.) at a single dose of 10 mg/kg in sheeps. In the present study 20 K1VIRCİK healthy sheeps were used. This study was carried out on the based a cross-over design. Blood samples were taken into sterilized tubes just before and 15, 30th minutes and 1, 2, 3, 4, 6, 8, 12, 24, 48, 72 and 96th hours following injections. The serum concentrations of tilmicosin were measured by high pressure liquid chromatography (HPLC) following extraction process. The serum concentration – time curves for each animals were showed and pharmacokinetic parameters were calculated using non-compartmental model analysis. $EAA_{(0-72)}$ and C_{max} were based for evaluation of bioequivalence. According % 90 confidence level, $EAA_{(0-72)}$ and C_{max} parameters was determined whether or not between acceptable limits (80 %- 125 %) for bioequivalence after the logarithmic transformed. Average $EAA_{(0-72)}$ of generic prepareate was 105,66 %. Average C_{max} of generic prepareate was 106,55 %. As a result of this study it is concluded that generic preparation was bioequivalent to original preparation.

Key Words: Bioequivalence, tilmicosin, sheep, generic

The present work was supported by the Research Fund of İstanbul University. Project No. 3583

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Kaliteli hayvansal üretimde veteriner tıbbi ürünler oldukça önemlidir. Türkiye’de yerli ilaç üretimini destekleyen uygulamalarla birlikte, yerli veteriner ilaç sanayisi önemli oranda gelişmiştir. Ülkemizde veteriner ilaçları ile ilgili düzenlemelerden ve ruhsatlandırılmasından Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı - Gıda ve Kontrol Genel Müdürlüğü bünyesindeki Veteriner İlaç Şube Müdürlüğü sorumludur ve veteriner tıbbi ürünler için 24.12.2011 tarih ve 28152 sayılı Resmi Gazete’de yayımlanan “Veteriner Tıbbi Ürünler Hakkındaki Yönetmelik” bulunmaktadır. Bu yönetmelik, veteriner hekimlikte kullanılan veteriner tıbbi ürünlerin üretimi, ithalatı, ihracatı, kullanımı, ambalajlanması, etiketlenmesi, tanıtımı, nakliyesi, depolanması, reçeteli ve reçetesiz satışı, izin verilmesi, kontrolü ve teminine ilişkin uygulamaları belirtmektedir (84).

Son yıllarda veteriner ilaçlarını üreten, pazarlayan ve ithalatını gerçekleştiren firma sayısında önemli artışlar olmuştur. Devlet Planlama Teşkilatının 2007 yılında hazırladığı “İlaç Sanayii Özel İhtisas Komisyonu Raporu”na göre; 2007 yılı itibari ile Türkiye’de veteriner sağlık ürünleri alanında faaliyet göstermek üzere Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı tarafından verilmiş veteriner ilaç ruhsatına sahip olan, ithal ederek pazarlayan veya üreten 139 adet firma bulunmaktadır (99).

İlaç sanayisindeki gelişmeler, ilaç üreten firma sayısındaki artış ve piyasa koşulları, rekabeti de beraberinde getirmektedir. Bu durum; piyasada çok sayıda jenerik ilacın bulunmasına sebep olmaktadır. Patent anlaşmasını kabul etmiş ülkelerde orijinal ilacın patent süresi dolduktan sonra ilacın buluşunu gerçekleştiren firmadan izin alınmadan üretilip satışa sunulan ilaca “jenerik ilaç” denir. Jenerik ilaç, orijinal ilaç ile aynı etken maddeyi aynı miktarda içermelidir. Aynı formülasyonda ve farmasötik şekilde olmalıdır. Ayrıca jenerik ilaç olarak kabul edilebilmesi için orijinal ilaca biyoeşdeğer olduğunun kanıtlanması koşulu vardır, bu nedenle orijinal ilaç ile aynı etkinlik, kalite ve güvenilirliktedir. Bunun yanı sıra orijinal ilaç için yapılan klinik araştırmaların tekrarlanması gerekmediğinden maliyeti dolayısıyla fiyatları daha düşüktür (98).

Beşeri hekimlikte ilaçların ruhsatlandırılması için biyoyararlanım ve/veya biyoeşdeğerlik çalışmalarının belgelendirilmesi gerekmektedir. Bu amaçla, “Farmasötik Müstahzarların Biyoyararlanım ve Biyoeşdeğerliğinin Değerlendirilmesi Hakkında

Yönetmelik” 27 Mayıs 1994 tarih ve 21942 sayılı yazı ile Resmi Gazetede yayımlanmıştır. Bu yönetmelik ile farmasötik bakımdan eşdeğer olan müstahzarların biyoyararlanımlarının farklılık göstermesi durumunda tedavinin yetersizliği veya toksisite artması sonucu sebep olabileceği sakıncaları önlemek için alınacak tedbirler belirtilmiştir (85). Sağlık Bakanlığı 1997 yılında yayımladığı genelge ile biyoyararlanım/biyoeşdeğerlik çalışmalarının sunulmasını zorunlu hale getirmiştir. Bu çalışmalar orijinal ilaç üreticileri için problem oluşturmazken jenerik ilaç üreticileri için önem taşımaktadır. 2000 yılı başı itibari ile de, biyoyararlanım/biyoeşdeğerlik çalışmaları gerektiren ilaçlar için, bu belgeler olmadan satış izni verilmemektedir. Bu durum ruhsatlandırma yönetmeliğinin 8. maddesinde açıkça belirtilmektedir. Ancak ürün sayısının fazla olması ve bu çalışmaları yapabilecek nitelikte Sağlık Bakanlığı’ndan onaylı klinik araştırma laboratuvarlarının bulunmayışı nedeniyle yaşanan zorluklar neticesinde biyoeşdeğerlik araştırmaları özellikle yurt dışındaki laboratuvarlarda gerçekleştirilmektedir (15).

Veteriner tıbbi ürünlerde biyoeşdeğerlik uygulamalarına beşeri ilaçlara göre daha geç başlanmıştır. ABD ve Avrupa Birliği ülkeleri başta olmak üzere birçok ülke 1990 yılından itibaren beşeri ilaçlarda olduğu gibi veteriner müstahzarlarda da biyoeşdeğerlik çalışmalarına yasal düzenlemeler getirmiştir (63, 94).

Türkiye’de henüz yeni yürürlüğe girmiş olan Veteriner Tıbbi Ürünlerle İlgili Yönetmeliğe göre, jenerik ilacın, aktif maddeler açısından orijinal ilaçla aynı kalitatif ve kantitatif kompozisyona sahip, aynı farmasötik formda ve biyoeşdeğerliği uygun biyoyararlanım testleri ile kanıtlanmış olması gerekmektedir. İthal edilen tüketime hazır veteriner tıbbi ürünlerin ruhsat başvurularında ise o ilacın bağımsız kurumlar tarafından yapılmış biyoyararlanım çalışmaları istenmektedir (84, 110).

Biyoeşdeğerliğin gösterilmesinde önceliği olmayan parenteral kullanıma özgü çözelti halindeki formülasyonlar ile veteriner sahada yapılan bazı biyoeşdeğerlik çalışmalarında bu formülasyonlarda biyoeşitsizlik saptanmıştır. Ayrıca jenerik ilaç için arınma zamanının belirlenmesinde önemli olan parametrelerin orijinal ilaçtan farklı olabileceği de vurgulanmaktadır (96).

Biyoeşdeğerlik; “Farmasötik eşdeğer olan iki müstahzarın, aynı molar dozda verilişinden sonra biyoyararlanımlarının (hız ve derece) ve böylece hem etkinlik, hem güvenlik bakımından esas olarak aynı olmasını sağlayacak derecede benzer olması” olarak tanımlanmıştır (85, 98).

Biyoeşdeğerlik çalışmaları sayesinde eşdeğer olduğu kanıtlanmış jenerik ilaçların artması, insanlara ve hekimlere tedavide değişik ilaçlar seçme ve tedavi süresince gerektiğinde birbirlerinin yerine kullanılabilme imkanı tanımaktadır. Bunun yanı sıra tedavide piyasadaki en ucuz jenerik ilaç kullanılarak tedavi maliyetinde bir azalma sağlanabilmektedir.

Ancak birbirinin yerine kullanılan ilaç önceki ilacın biyoeşdeğeri değilse tedavide yeteri kadar başarı sağlanamayacağı gibi, etkinin başlama süresi gecikebilir ya da istenmeyen etkiler ortaya çıkabilir.

Beşeri ilaçlardan farklı olarak; biyoeşdeğerliği gösterilmeyen ruhsatlı veteriner tıbbi ürünlerin kesim öncesi bekletme süreleri ve sütün tüketilmeme süreleri de değişebileceğinden bu durum gıda güvenliği/halk sağlığı açısından da dolaylı olarak önem taşımaktadır.

Ülkemizde 2004 yılı itibari ile aktif olan 1601 adet ruhsatın % 69'u yerli üretim, % 31'i ithal edilmek üzere verilmiştir. Ana ürün grupları içinde veteriner ilaç ruhsat sayısının (1601) yaklaşık % 34'ünü antibiyotikler oluşturmaktadır. Tüketim açısından bakıldığında ise hayvansal üretimde önemli ekonomik kayıplara sebep olan ayrıca enfeksiyon ve salgın hastalıklarla mücadelede kullanılan antibiyotiklerin payı toplam tüketimin % 33'ünü oluşturmaktadır (99).

Makrolid grubu antibiyotikler farmakokinetik özellikleri ve antibakteriyel etki spektrumları nedeniyle insan ve hayvan sağlığı açısından geniş bir kullanım alanına sahiptir. Tilmikosin sadece veteriner hekimlikte kullanım için geliştirilmiş, sığır ve koyunlarda yaygın olarak kullanılan makrolid grubu bir antibiyotiktir (49).

Çalışmada; belirtilen avantajlarından dolayı koyun ve sığırların solunum sistemi enfeksiyonlarında sıklıkla tercih edilen tilmikosin fosfat içeren bir jenerik preparatın koyunlarda biyoeşdeğerlik yönünden olası farklılıkları değerlendirildi.

2. GENEL BİLGİLER

Bu bölümde biyoyararlanım, biyoeşdeğerlik ve çalışmamızda incelenen jenerik ilacın etken maddesi olan tilmikosine ait genel bilgiler yer almaktadır.

2.1. Biyoyararlanım

Biyoyararlanım, geniş anlamıyla farmasötik şekil içinden aktif maddenin emilme ve vücuttaki etki yerine erişebilme hızı ve derecesi olarak tanımlanabilir. Diğer bir anlatımla; vücudun, sistemik etki yapması için verilen bir ilaçtan ne kadar yararlandığının somut bir ölçüsüdür (17, 27, 28, 37, 77, 101). İlacın kan konsantrasyonlarının belirli zaman aralıklarında ölçülmesi ile çizilen kan konsantrasyonu - zaman eğrisinin altında kalan alan, emilerek sistemik dolaşıma geçen ilaç miktarını gösterir ve EAA (Eğri Altında kalan Alan) ile kısaltılarak gösterilir. Damar içi yolla yapılan uygulamalarda EAA'nın % 100 olduğu yani biyoyararlanımın tam olduğu kabul edilir (35, 48, 77). Damar içi yol dışındaki uygulamalarda ilacın sistemik dolaşıma geçmeden önce uğrayabileceği kayıplar nedeniyle EAA genellikle damar içi uygulamadakinden küçük olur. Biyoyararlanım mutlak ve bağıl olmak üzere iki kısımda incelenir. İlaçların EAA değerlerini karşılaştırarak biyoyararlanım oranlarını saptamak mümkündür. Buna göre ilacın damar içi yol dışındaki herhangi bir yolla verilmesi ile elde edilen alan ile damar içi yolla elde edilen alanın oranı mutlak biyoyararlanım olarak tanımlanır. Bağıl biyoyararlanım ise damar içi kullanım dışında en yüksek biyoyararlanım sağlayan bir farmasötik şekille veya diğer parenteral yollardan biri ile elde edilen biyoyararlanıma oranla bulunan biyoyararlanımdır. Bu kavram ile ilacın iki farmasötik şeklinin biyoyararlanımlarının karşılaştırılması ve biyoeşdeğerliklerinin tahmin edilmesi sağlanır (2, 18, 48, 77, 85). Tilmikosin içeren enjeksiyonluk çözeltilerin kardiyotoksik etkilerine bağlı olarak tüm türlerde ölümler oluşabileceğinden damar içi yolla uygulanması önerilmez (103).

Biyoyararlanımı belirleyen iki faktörden biri ilacın emilim derecesi diğeri emilim hızıdır. Biyoyararlanım incelemelerinde bu iki faktörün kan konsantrasyonu - zaman eğrisine yansımaları temsil eden 3 parametre üzerinden biyoyararlanım ve biyoeşdeğerlik değerlendirilir. Bu 3 parametre, C_{max} , t_{max} ve EAA'dır (18, 35, 48, 77, 101).

- **C_{max} (Maksimum Plazma Konsantrasyonu):** İlacın kandaki en yüksek (pik - doruk) konsantrasyonudur. Birimi $\mu\text{g/ml}$ ya da birim/ml'dir. Farmakolojik etkinin şiddeti ile ilişkilidir (48, 77).
- **t_{max} (Maksimum Plazma Konsantrasyonuna Ulaşma Zamanı):** İlacın kandaki en yüksek konsantrasyona ulaşma süresidir. Birimi saat olarak ifade edilir. Genellikle biyolojik cevabın başlama süresi ile korelasyon gösterir (48, 77).
- **EAA (Eğri Altında kalan Alan):** Kan konsantrasyonu - zaman eğrisinin altında kalan alandır. Birimi $\mu\text{g/ml.saat}$ olarak ifade edilir. Emilen ilaç miktarının kaba bir ölçüsü olarak kabul edilir. Toplam değeri sistemik dolaşımdaki ilaç miktarının, dolayısıyla biyoyararlanım derecesinin göstergesidir, ancak emilim hızı hakkında fikir vermez. Bu değer, tek doz biyoyararlanım çalışmalarında en önemli parametredir. Bu alanın doğru hesaplanabilmesi için örnekleme zamanının yeteri kadar uzun tutulması gerekmektedir ki bu da genellikle ilacın yarı ömrünün 5 - 10 katı kadar süredir (48, 77).

2.2. Biyodeşdeğerlik

Orijinal ilacın patent süresi dolduğunda aynı ilacı diğer firmalar jenerik ilaç olarak üretebilir. Jenerik ilaçlar, ABD'de 1984 yılına kadar antisubsitüsyon¹ yasalarının yürürlükte olması nedeniyle fazla ilgi görmemiştir. Bu yasa eczacılara, hekimin yazdığı ilacın jeneriğini verme hakkını tanımıyordu. İlaç giderlerinde tasarrufun kaçınılmaz hale gelmesi ve sağlık sigortaları ile özel sektörün desteği nedeniyle 1984'de çıkarılan yasa ile Amerikan İlaç ve Gıda Ajansı (FDA), daha önce etkinliği ve güvenilirliği saptanmış patentli ilaçların jenerik kopyalarına ruhsat verme izni tanımıştır. Bu tarih itibari ile antisubsitüsyon yasaları yürürlükten kaldırılmış ve 1986 yılına kadar 1000'den fazla jenerik ilaca ruhsat verilmiştir (47, 66).

FDA ilk kez 1980 yılında terapötik eşdeğer kabul ettiği ilaçların listesini "Turuncu Kitap (Orange Book)"adı altında yayınladı ve sadece bu kitapta yer alan ilaçların jeneriklerine ruhsat verdi. Bu uygulama ile ABD'de sadece 1988 yılında 2 milyar \$ tasarruf sağlamış ve hekimlerin yazdığı jenerik ilaç miktarı 1989'da % 20

¹ Antisubsitüsyon yasaları: Hekimin reçeteye yazdığı ilacın jeneriği ile değiştirilememesi

artmıştır. 1997 - 2000 arasında ise bu miktar yaklaşık 9 milyar \$ olmuştur. Bu gelişmeleri çeşitli eleştiriler de izlemiştir. İleri sürülen eleştirilerden biri hekimin reçete yazma – ilaç seçme özgürlüğünün elinden alınması yönünde olmuştur. Bir diğer eleştiri ise jenerik ilaçların klinik uygulamada her zaman patentli eşdeğerleri kadar başarılı olmadıkları yönünde olmuştur. Kronik kalp yetmezliğinde kullanılan digoksin, terapötik indeksi dar bir ilaçtır ve bu nedenle biyoyararlanımındaki ufak bir değişiklik kan konsantrasyonlarını etkisiz veya toksik düzeylere getirebilmektedir. 1975 yılında İsrail’de digoksin intoksikasyonu ile ilgili sayısız olgu görülmüştür. Yapılan araştırmalarda hastaların kullandığı digoksin preparatının toksisite belirtilerine yol açmasının, üretici firmanın galenik formülasyonu değiştirmesine bağlı olduğu saptanmıştır. Her iki formülasyon 0,5 mg digoksin içermesine rağmen yeni formülasyon çok yüksek kan konsantrasyonları oluşturmuş ve böylece terapötik konsantrasyonların aşılması toksisite belirtilerinin ortaya çıkmasına neden olmuştur (23). Yaşanan bu sorunların nedenlerini aydınlatmaya yönelik çalışmalar “biyoyararlanım” ve “biyoeşdeğerlik” kavramlarının tedavide önemini ortaya koymuştur. Yapılan araştırmalarda vitamin, aspirin, tetrasiklin, tolbutamid, fenitoin, fenilbutazon, kloramfenikol ve tiroksin içeren ilaçlar için de biyoeşitsizlik ve terapötik eşdeğersizlik ile ilgili raporlar bildirilmiştir (18).

Ülkemizde veteriner tıbbi ürünler için yürürlükte olan Veteriner Tıbbi Ürünler Hakkındaki Yönetmeliğe göre ruhsatlandırılmada orijinal ilacın jeneriği olduğu kanıtlanan tıbbi ürünler için, güvenilirlik ve kalıntı testleriyle klinik öncesi ve klinik denemeler yapılması istenmemektedir (84).

Sağlık Bakanlığı tarafından yayımlanan “Farmasötik Müstahzarların Biyoyararlanım ve Biyoeşdeğerliğinin Değerlendirilmesi Hakkında Yönetmelik”e göre **biyoeşdeğerlik**; “Farmasötik eşdeğer olan iki müstahzarın, aynı molar dozda verilmişinden sonra biyoyararlanımlarının (hız ve derece) ve böylece etkilerinin hem etkinlik, hem güvenlik bakımından esas olarak aynı olmasını sağlayacak derecede benzer olması” şeklinde tanımlanmıştır (85).

Farklı firmalar tarafından üretilen farmasötik eşdeğer veya alternatif preparatlar, tedavide her zaman aynı etkinlik ve güvenilirlikle kullanılamamaktadır. Bu müstahzarların terapötik eşdeğer olarak kabul edilebilmesi için biyoyararlanımlarının da eşdeğer olduğunun yani biyoeşdeğerliklerinin kanıtlanması gerekmektedir. Bu amaçla

yapılan biyoeşdeğerlik testleri, aynı etken maddeyi içeren benzer formülasyonlardaki farklı müstahzarların karşılaştırılmasında kullanılan bilimsel yöntemlerden biridir. Amaç, farmasötik teknoloji ile, benzer farmakolojik etkiyi elde etmek için aynı etken maddeyi içeren çeşitli ilaç formülasyonları arasındaki farklılıkları-benzerlikleri belirlemektir (28, 82).

Eşdeğerlilik kavramı ile ilgili aşağıdaki tanımlar yapılabilir:

Farmasötik eşdeğerlik: Aynı etken madde veya maddeleri, aynı miktarda, aynı veya karşılaştırılabilir standartlara uyan dozaj şekillerinde içeren müstahzarlar için kullanılan ifadedir (85).

Terapötik eşdeğerlilik: Güvenilirliği ve etkinliği saptanmış ürünle aynı etken maddeyi veya terapötik etkili molekül kısmını içeren, klinik bakımdan aynı etkinlik ve güvenilirliği gösteren müstahzarlar için kullanılan ifadedir. Farmasötik eşdeğer veya alternatif olan ilaç ürünleri arasında terapötik eşdeğerliliği kanıtlamanın en uygun yöntemi biyoeşdeğer olduklarının gösterilmesidir. Eğer iki ürünün etki ve güvenliği onaylanmışsa, ürünler farmasötik eşdeğerse (biyoeşdeğerse), iyi üretim uygulamaları (GMP) kurallarına göre üretilmişlerse ve yeterli etiket bilgisini içeriyorlarsa FDA'ya göre terapötik eşdeğer olarak kabul edilir (85, 102).

Farmasötik alternatif: Aynı etken maddeyi veya terapötik etkili molekül şeklini içeren, fakat kimyasal şekli, miktarı, veya dozaj şekli klinik bakımdan anlamlı farmakokinetik, farmakodinamik ve/veya toksisite farklılığına neden olmayacak şekilde farklı olan müstahzarlar için kullanılan ifadedir (18).

Orijinal ürün (innovatör): Kimyasal, biyolojik, farmasötik, farmakolojik-toksikolojik ve klinik verileri içeren tam dosya ile ilgili bakanlıktan onaylanmış, ruhsat almış (patentli) şekilde pazarlanan ilaç ürünleri için kullanılan ifadedir (18, 50).

Jenerik ürün: Aktif maddeler açısından orijinal ürünle kalitatif ve kantitatif kompozisyona sahip, aynı farmasötik formda ve biyoeşdeğerliği, uygun biyoyararlanım testleri ile kanıtlanmış üründür (84).

Suprabiyoyararlanım: Yeni ürünün ruhsatlı üründen daha yüksek biyoyararlanım göstermesidir. Bu durumda, yeni ürünün daha düşük konsatrasyonda yeniden formüle edilmesi düşünülmelidir. Aksi takdirde doz ayarlama zorunluluğu gündeme gelir. Bu

durumdaki ürünler referans ürüne terapötik eşdeğer olarak kabul edilmemelidir, eğer pazarlama izni alınmış ise yeni bir ilaç olarak düşünülmelidir (18, 50).

2.2.1. Biyoeşdeğerlik İncelemelerinin Gerekliğinin Saptanması (27)

- Jenerik olarak tasarlanmış bilinen yeni bir maddeyi içeren ürünler; referans etkinlik ve/veya güvenlik anlamında onaylanmış bir ürün ise biyoeşdeğerliği de gösterilmelidir.
- Bir ilacın dozaj özelliklerinde, bileşiminde yada imalat işlemlerinde bir değişiklik yapıldığında ve yeni uygulama yolu söz konusu ise yeni ürün için yürütülen klinik denemelerde verilen referans ürüne göre etkinlik ve/veya güvenlik açısından biyoeşdeğer olduğu gösterilmelidir.
- Biyoyararlanım çalışmaları biyoeşdeğerliğin gösterilmesinde kullanılmıyorsa (yeni ürünün suprabiyoyararlanım göstermesi gibi) yada aktif maddede, endikasyon alanında, farmasötik formda ve uygulama yolunda değişiklik yapılmışsa jenerik ürün referans ürünle karşılaştırılmalıdır. Bu durumda farmakokinetik verilerin karşılaştırılması gereklidir.
- Yeni aktif madde(ler) içeren müstahzarlar için biyoeşdeğerlik çalışmaları yapılır.

Daha önceden onaylanmış bir müstahzara farmasötik eşdeğer olarak yeni bir müstahzarın ruhsatlandırılması isteniyorsa; aşağıda belirtilen kriterlere göre değerlendirme yapılır:

- Müstahzarın farmasötik şekli ve veriliş yolu:** Oral yoldan verilen müstahzarlara (katı farmasötik şekiller öncelikli) öncelik verilmelidir. Bunu sırasıyla rektal yolla uygulananlar, transdermal uygulananlar, parenteral yoldan verilenler ve lokal olarak uygulanan ürünler izler (52, 85).
- Etken maddenin terapötik indeksinin genişliği:** Terapötik indeksi dar olanlara öncelik verilir. Bu ilaçlardan oral yolla kullanılanların önceliği sadece parenteral yolla kullanılanlarınkine göre daha fazladır (52, 85).

- c) **Doz-Yanıt eğrisinin Dikliği:** Terapötik indeksin dar olması ile ilişkilidir. Doz-cevap eğrisi dik olanlara öncelik verilir (85).
- d) **Etken maddenin farmakokinetik özellikleri:** İlacın terapötik doz aralığı içinde doza bağımlı (non-linear) kinetik göstermesi, presistemik eliminasyonun % 70'den fazla olması, emilimin % 70'den az olması, uygun olmayan fizikokimyasal özelliklerinin bulunması, emilim ve atılım hızının bireyler arasında fazla değişkenlik göstermesi gibi durumlarda ilacın biyoeşdeğerliğinin incelenme gerekliliği önceliklidir (52, 85).

2.2.2. Biyoeşdeğerlik İncelemelerinin Genellikle Gerekemediği Durumlar

Veteriner ilaçlarda biyoeşdeğerlik incelemelerinin genellikle gerekli görülmediği durumlar aşağıda belirtilmiştir (31)

- a) Müstahzarın aşağıda sayılan şartların geçerli olması kaydıyla sadece etken maddenin yitiliği (strength) bakımından fark göstermesi:
- farmakokinetiğinin lineer olması
 - nitel kompozisyonun aynı olması
 - etken madde ile yardımcı maddeler arasında oranın aynı olması veya yardımcı maddelerin oranının aynı olması
 - iki müstahzarında aynı üretici tarafından ve aynı yerde üretilmesi
 - orijinal müstahzar ile biyoyararlanım incelemesinin yapılmış olması
 - aynı test koşullarında *in vitro* çözünme hızlarının aynı olması
- b) Ürün sadece damar içi uygulamalar için tasarlanmış ve hedef türlerde kullanmak için onaylanmış bir damar içi çözelti ile aynı aktif madde veya terapötik bileşiği içeriyorsa,
- c) Ürün parenteral veya oral olarak uygulanan bir çözelti şeklinde kullanılıyor ve hedef türlerde kullanılmak üzere yakın zamanda onaylanmış bir veteriner ürünüyle aynı aktif madde/maddeleri ve yardımcı maddeleri aynı konsantrasyonda içeriyorsa,
- d) Biyoyararlanımı hedef türlerde gösterilmiş referans ürünle aynı formülasyona (aynı aktif ve yardımcı madde ve aynı fizikokimyasal özelliklere) sahipse,

- e) Ürün emilmesi istenmeyen bir oral dozaj şekli olarak tasarlanmış (antiasit veya radioopak madde) ise,
- f) Ürün; şurup ve benzeri çözünebilir oral solüsyon ise, aktif madde veya terapötik bileşiği hedef türlerde kullanılmak üzere onaylanmış bir ürünle aynı terapötik kısım ve aktif maddeyi içeriyorsa veya aktif madde veya terapötik bileşiğin emilmesini belirgin derecede etkileyebilecek her hangi bir inaktif madde içermiyorsa,
- g) Ürün orijinal üreticiler tarafından yeniden formüle edildiğinde renklendirici veya tatlandırıcı ajanlar ya da koruyucular gibi biyoyararlanımda etkiye sahip olmadığı bilinenler hariç tutulduğunda orijinal ürünle özdeşse, biyoeşdeğerlik çalışmaları gerekmemektedir.

2.2.3. Biyoeşdeğerlik Çalışma Tipleri

Biyoeşdeğerlik çalışmaları, uygun şartlarda *in vitro* veya *in vivo* olarak yapılır (27, 31, 102). Yeni ilaç araştırmaları yada inovatörün (araştırması tamamlamış ürün) ruhsatlandırılması sürecinde; klinik denemelerin erken ve son dönemlerinde kullanılan formülasyonlar arasında, klinik denemelerde kullanılan formülasyonlar ile pazarlanacak formülasyonlar arasında ve stabilite çalışmaları ile klinik denemeler arasında kullanılacak formülasyonlar arasında bağlantı kurmak ve karşılaştırma yapabilmek için biyoeşdeğerlik çalışmaları gereklidir (112; kaynak Kayaalp 2001a P: 16).

In vivo biyoeşdeğerliği en yüksek doz için gösterilen ürünün en küçük dozaj formülasyonunun biyoeşdeğerliğini desteklemede, onaylanmış bir üründe küçük bir formülasyon değişikliği yapıldığında ve bir ürünün farklı zamanlarda üretilmiş yığınları (batch) arasındaki tutarlılıktan emin olunmak istenildiğinde *in vitro* biyoeşdeğerlik çalışmaları yeterlidir (17, 31, 78).

In vivo biyoeşdeğerlik testi ise farmakokinetik ve/veya farmakodinamik çalışma olarak planlanmalı ve yürütülmelidir. Farmakodinamik çalışma uygun fizyolojik materyallerde ilaç konsantrasyonunu belirleyebilecek duyarlı bir analitik metot olmadığında tercih edilebilir. Bu yöntemde hedef türlerde aktif madde ve/veya metabolitlerinin akut farmakolojik etkilerinin uygun şekilde ölçülmesi esastır. Dolayısıyla doz-cevap ilişkisinin ortaya konması gereklidir. Lokal etki elde etmek için üretilmiş veteriner tıbbi ürünlerde biyoeşdeğerliğin gösterimi için en uygun metottur (17, 31, 102). Farmakokinetik çalışmalarda ise hedef türde, aktif madde yada terapötik

bileşenin veya metabolitlerinin başta kan, plazma, serum olmak üzere uygun vücut sıvılarında yada dokularındaki konsantrasyonlarının zamanın bir fonksiyonu olarak hesaplanan farmakokinetik verileri üzerinden değerlendirme yapılır (17, 31).

2.2.4. Tek Doz Biyodeşdeğerlik Çalışmalarının Tasarımı

Çalışmada karşılaştırılacak formülasyonların sayısı iki ise, iki periyotlu – iki ardışıklı çapraz geçişli tasarım en tercih edilen tasarımdır. Bu metod ile aynı zamanda bireyler arası farklılıklarda en aza indirilmiş olunur (17, 31, 78). Bu tasarımla yapılacak çalışmada kullanılacak denekler rastgele olacak şekilde iki gruba dağıtılır. Hangi gruba hangi ilacın verileceği de yine rastgele belirlenir. Buna göre ilaç uygulama çizelgesi Tablo 2-1’de gösterilmiştir.

Tablo 2-1: İlaç uygulama çizelgesi

	1. Grup	2. Grup
1. periyot	A	B
Arındırma (washout) süresi		
2. periyot	B	A

A: referans ürün (orijial ilaç), B: test ürün (jenerik ilaç)

İki periyot arasında ilk periyotta alınan ürünün tamamen vücuttan atılmış olmasını sağlamak için, etken maddenin atılım yarılanma ömrünün 5-10 katı kadar bir süre bırakılır (18, 27, 31, 35, 102). Eğer incelenecek madde avermektinler gibi yağ dokuya afinitesi yüksek olan bir bileşik ise bekleme süresi atılım yarılanma ömrünün en az 10 katı kadar olmalıdır (102).

2.2.4.1. Hayvanlar

Çalışma, ilacın kullanıldığı hedef türler ile yürütülmelidir. Hayvanlar klinik bakımdan sağlıklı ve yaş, ırk, canlı ağırlık açısından homojen yapıda gruplar oluşturacak şekilde seçilmelidir. Ancak çalışma gruplarında homojenliğin sağlanmasının zor olduğu durumlarda (atlarda olduğu gibi) homojen olmayan bir grubun kullanılması da kabul edilebilir. İlaç ürünü ile cinsiyet arasında açık bir

etkileşim yoksa çalışmanın bir cinsiyet ile sınırlandırılmaması tavsiye edilir (31, 35, 102).

Bir biyoeşdeğerlik çalışmasında, büyük denek içi değişkenliğe sahip ürünler az sayıda hayvanla çalışıldığında (n=6) gerçekte formülasyonlar arasında varolan farklılık kullanılan istatistik metodun yetersizliğinden dolayı belirlenemeyebilir. Aksi durumlarda denek içi değişkenliği küçük olan ürünler çok sayıda denek (n=24 gibi) ile çalışıldığında ise tedaviler arasındaki farklılıklardan emin olunabilir ama bu küçük ve tedavide anlamı olmayan bir belirleme olacaktır (102).

2.2.4.2. Deneme Şartları

Çalışmalar yürütülürken “İyi Laboratuvar Pratiği” (GLP) kurallarına uyulmalıdır. Aktif maddenin durumunu etkileyebileceği düşünülen faktörlere, oral yol başta olmak üzere uygulama yolu için özen gösterilmelidir. Biyoeşdeğerlik çalışmalarının verimli şekilde yürütülebilmesi için açlık – tokluk şartları da protokolda belirtilmelidir. Zira besinler, ilaç emilmesinin hız ve derecesinde denek içi ve denekler arası değişkenliği artırabilir (27, 31).

2.2.4.3. Araştırılacak Karakteristikler

Biyoeşdeğerliğin değerlendirilmesi, etken maddenin kan serumu yada plazmadaki konsantrasyonlarının ölçümüne dayanır. Ancak bazı durumlarda, etken madde yerine bir metabolitin de ölçümü gerekebilir. (27, 31) Özellikle metabolitler, etken maddenin net etkinliğine belirgin derecede katkı sağlıyorsa metabolitin de kan konsantrasyonlarını ölçmek gerekir (27).

2.2.4.4. Referans ve Test Ürünün Seçimi

Referans ürün olarak, genellikle ilacı ilk geliştiren firmanın ürünü, bu yoksa geliştiren firma lisansı ile üretilen benzer ürün, o da yoksa diğer bir firmanın benzer ürünü seçilmelidir (31, 35, 51, 102)

Test ve referans olacak ürünlerin nitelik, saflık, dayanıklılık ve özdeşlik bakımından kabul edilebilir standartları karşıladığı gösterilmelidir. Test ürünün kontrol bulguları bildirilmelidir. Test ürün içindeki etken madde miktarı, referans ürün içindeki miktardan $\pm\% 5$ 'ten fazla fark göstermemelidir (2, 27).

2.2.4.5. Doz Seçimi ve Uygulama Yolu

Biyoeşdeğerlik çalışmalarında genellikle test ürünü için önerilen doz, referans ürün için önerilen doza uygun olmalıdır. Referans ürün için onaylanmış birden fazla doz varsa, çalışmada en yüksek doz kullanılmalıdır (27, 35, 102). Özellikle büyük hayvanlarda biyoeşdeğerlik çalışmaları yapılacaksa doz ayarlaması yapılırken, hayvanların canlı ağırlıklarının dikkatli takibinin EAA, t_{max} ve C_{max} değerlerinde meydana gelebilecek olası farklılıkları gidermesi bakımından önemi unutulmamalıdır (64, 102).

Biyoeşdeğerlik değerlendirilmesinde referans uygulama yolu olarak klinik ve toksikolojik denemelerde kullanılan yol tercih edilmelidir (31). Parenteral kullanılan enjektabl çözeltilerin biyoeşdeğerlik çalışmalarında, enjekte edilen ilacın hacmi ve bölgenin yüzey alanı, enjekte edilen ilacın dokuya yayılma yeteneği (penetrasyon katsayısı), çözelti içindekilerin hareket hızı ve buna bağlı olarak çözünmemiş kısmın çözünme hızı (çözünme işlemi sırasında merkezdeki çözünmemiş kısımdan çözünme hızı, etraftaki çözünen kısmın yoğunluğu ile yakından ilgilidir), enjeksiyon bölgesinin anatomik yapısı (kan ve lenf dolaşımı yönünden) ve pH'sı (özellikle yangılı durumlarda), formülasyonun yağda veya suda çözünürlük durumu, hazırlanma şekli ve yoğunluğu, kullanılan ürün veya metabolitlerinin proteinlere bağlanma veya hücre içi ya da hücreler arası bölgeye taşınma gibi faktörler göz önünde bulundurulmalıdır (27).

2.2.4.6. Örnekleme

Yapılacak biyoeşdeğerlik incelemesinin tipine göre, aktif maddenin yada metabolitlerinin konsantrasyonundaki değişikliklerinin izlenebileceği total kan, serum, plazma, idrar gibi örneklerde duyarlı analiz yöntemi ile ölçüm yapılır (31, 35). Örnek alım türü ve örnek alım tüplerinin tipi, varsa soğuk zincir uygulaması ve alınacak örneklerin nasıl saklanacağı önceden belirlenmeli ve analiz yöntemine göre yeterli miktarda örnek alınmalıdır (51, 85).

Örnek alım süreleri, EAA, t_{max} ve atılım yarılanma ömrü gibi temel parametrelere göre düzenlenmelidir. Kan konsantrasyon – zaman eğrisini doğru bir şekilde belirleyebilmek için örnek alma süresi, t_{max} 'tan sonra en az 3 tercihen 5 atılım yarı ömrü kadar olmalıdır (27, 35, 94, 102).

2.2.4.7. Örneklerin Analizi

Etken maddeyi, biyolojik materyallerde saptarken güvenilir ve tatmin edici bulgular elde etmek için kullanılacak analitik yöntemlerin geçerliliği tam olarak kanıtlanmalı ve belgelendirilmelidir (27, 31). EMEA'nın 2010 yılında çıkardığı veteriner medikal ürünlerin biyoeşdeğerlik çalışma rehberi, kimyasal analiz validasyon kriterleri olarak Avrupa Birliği – Japonya - ABD'nin dahil olduğu Veteriner Tıbbi Ürünlerin Tescili için Teknik Gereksinimlerin Uyumlaştırılması üzerine Uluslar arası İşbirliği (VICH - International Cooperation on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Veterinary Medicinal Products) rehberindeki GL1 prosedürlerini esas alır (27). Analizin performansının kabul edilebilir olduğunu ve analiz bulgularının güvenilirliğini garantilemek için esas olan biyoanaliz yöntemi karakteristikleri aşağıda belirtilmiştir.

Konsantrasyon aralığı ve doğrusallık (Concentration Range and Linearity):

Analizde kullanılacak standart çözeltiler en düşük ve en yüksek konsantrasyonları içermelidir ve doğrusallığın sağlanması için standart eğri en az 5- 6 konsantrasyondan elde edilen 5-6 nokta içerecek şekilde oluşturulmalıdır (35).

Elde edilen değerlerden ulaşılan korelasyon katsayısı (r)² metodun duyarlılığını belirler (95, 106).

Saptama Limiti (Limit of Detection-LOD):

Analitin (standart çözeltilerden analizi yapılan etken madde) analitik bir işlemle saptanabilecek en düşük konsantrasyonudur. Görsel değerlendirme veya sinyal/gürültü oranı temeline göre belirlenebilir. Görsel değerlendirme temeline göre saptama limiti, en düşük düzeyde güvenli bir şekilde ölçülebilen, bilinen konsantrasyonlardaki çözeltilerin analizi ile tanımlanabilir. Sinyal/gürültü temeline göre ise analitin saptanabilir miktarı katılan örneklerin analizinden elde edilen sinyaller ile kör (boş numune) sonuçlarının karşılaştırılması ile sinyal/gürültü oranı belirlenir. Saptama limiti için sinyal/gürültü oranı genellikle 3'e 1 ya da 2'ye 1 olarak kabul edilir (2, 35, 93, 95, 106).

Kantitasyon (Nicleme) Limiti (Limit of Quantitation-LOQ):

Analitin, analitik bir yöntemle, uygun bir doğruluk ve kesinlikle saptanabilecek en düşük konsantrasyonudur. Genellikle kantitasyon limiti saptama limitinin 2 yada 3 katıdır. Analitin bilinen miktarlarla azaltılması ile hazırlanmış çözeltilerde ölçüm yapılır ve kabul edilebilir kesinlik ve doğruluğa sahip en düşük miktar belirlenir. Bu değer standart sapmasının

10 - 20 katı ile kantitasyon limiti bulunur. Genellikle sinyal/gürültü oranı 10'a 1'dir (2, 93, 95, 106).

Özgüllük (Specificity): Analitik metodun örnekteki diğer bileşenlerin varlığında analitin miktarını ve farklılığını saptayabilme yeteneğidir (35, 93).

Doğruluk (Accuracy): Yöntem ile elde edilen değerlerin gerçek değere yakınlığıdır. Metodun doğruluğu, her bir konsantrasyon düzeyinin 5-6 kez saptanması ile belirlenir. Kabul edilebilir kriter, nominal değerden \pm % 15'den fazla sapmanın olmamasıdır (35, 93, 95).

Kesinlik (Precision): Herhangi bir değerlerin tekrarlanabilme kabiliyeti ve elde edilen test sonuçlarının birbirine yakınlığının derecesidir. Kesinlik tanımlamasında aynı konsantrasyondan (0.1 ppm) 5-6 kez uygulanması ile elde edilen verilerin varyasyon katsayısı \pm % 10, 0,1 ppm'den düşük konsantrasyonlarda varyasyon katsayısı \pm % 20 olması kabul edilebilir (35, 93, 95, 106).

Geri kazanım (Recovery): Bilinen miktarda analit katılan biyolojik örneğin analizi ile elde edilen değerlerin standartlarla karşılaştırılması ile tanımlanır. Geri kazanım analitik metodun ekstraksiyon etkinliği ile ilgilidir. Her ne kadar geri kazanım oranının % 100 olması istense de analitin geri kazanım oranı en az % 50-60 arasında olmalıdır. Geri kazanım oranını belirlemek için en düşük, orta ve en yüksek olmak üzere 3 farklı konsantrasyonda hazırlanan örneklerin analizi ile elde edilen sonuçlar değerlendirilir (35).

Analitin Stabilitesi: Klinik ve analitik dönemler arasındaki sürede biyolojik sıvılardaki ilacın stabilitesi test edilmelidir. İki farklı konsantrasyonda iki donma - erime döneminin etkisi saptanmalıdır. İki farklı konsantrasyonda hazırlanan stabilite örnekleri, çalışma örnekleri ile birlikte saklanmalı ve çalışma örnekleri ile birlikte analiz edilmelidir (91).

2.2.5. Tek Doz Biyoşdeğerlik Çalışmalarında Veri Analizi

Biyoeşdeğerliğin değerlendirilmesinde ilk amaç, referans ve test ürünlerin analizinden elde edilen veriler değerlendirilerek, biyoyararlanım farkını ortaya koymak ve klinik bakımdan önemli bir fark olup olmadığını göstermektir (27).

Bu amaçla test ürünle referans ürünün biyoyararlanımlarının karşılaştırılması, kan konsantrasyonu - zaman eğrisi altında kalan alan (EAA) ve maksimum kan konsantrasyonu (C_{max})'nun test/referans oranları üzerinden yapılır (27, 31, 35, 102).

Bu parametrelerden EAA, ilaç ürünü içindeki etken maddenin biyoyararlanım derecesini yansıtır. Aynı zamanda bu değer vücudun ilaca maruz kalma derecesinin de bir göstergesidir. C_{max} ise biyoyararlanım derecesini ve hızını kısmen yansıtır buna ek olarak vücudun ilaca maruz kalma oranını göstermesi nedeniyle güvenlik bakımından da önemli bir parametredir. Bu iki parametre biyoeşdeğerlik çalışmalarında birincil değişkenlerdir. Maksimum konsantrasyona ulaşma zamanı (t_{max}) ise ilaç ürününün emilim hızını yansıtır, ancak klerens ve atılım hızından etkilenmesi nedeniyle ikincil nitelikte değişkendir. Biyoeşdeğerlik çalışmalarında test ürününün t_{max} 'ı ile referans ürünün t_{max} 'ı arasında hesaplanan fark üzerinde durulur. Bu farkın istatistiksel değerlendirilmesi eğer hızlı salınım yada kontrollü salınım söz konusu ise önem kazanır (2, 27, 31, 51, 82, 102).

EAA değerinin hesaplanması için üç yarılanma ömrü boyunca uygun aralıklarla örnek almak gerekir. Üç yarılanma ömrü EAA'nın yaklaşık % 87,5'ini temsil eder. Bu alanın gösterilmesi için yaklaşık 10-15 örnek almak gerekir (2). Tek dozlu biyoeşdeğerlik çalışmalarında EAA değeri olarak $EAA_{(0-t_n)}$ tercih edilir, ancak $EAA_{(0-t_n)}$ 'in ekstrapolasyonu² ile kestirilen $EAA_{(t_n-\infty)}$ 'da hesaplanır ve doğrulayıcı kanıt olarak kullanılabilir. EAA ise $EAA_{(0-t_n)}$ ve $EAA_{(t_n-\infty)}$ toplamı ile bulunur (17, 21, 31, 35, 37, 101). $EAA_{(0-\infty)}$ hesaplanırken lineer trapezoidal yöntem kullanılmalıdır. Eğer atılım fazındaki örnekleme aralıkları yeterli ise logaritmik trapezoidal yöntemle yada diğer metodlarla da hesaplama yapılabilir (2, 35, 78). Ekstrapolere edilen EAA miktarı toplam EAA'nın % 20'sinden fazla olmamalıdır, fazla olması durumunda $EAA_{(0-\infty)}$ 'un kullanılması mümkün değildir (31, 35).

Örnekleme sırasında ilk alınan örnek (t_0) ile son örnek alma zamanına (t_n) kadar ölçülen kan konsantrasyonları ham verileri oluşturur. Bu ham verilere dayanarak hem aritmetik hem de logaritmik olarak kan konsantrasyon eğrisi çizilir. Bu eğrinin sonsuza ekstrapolasyonu yapılır. Her bir örnek üzerinden test ve referans ilaç için $EAA_{(0-n)}$,

²Ekstrapolasyon: Önceki deneylerden elde edilen verilere bakarak deneye elverişli olmayan koşulların sonucunu tahmin etme işlemi

$EAA_{(0-\infty)}$, C_{max} ve t_{max} değerleri bulunur. Bu bireysel farmakokinetik verilerle grubun tümünü nitelendirmek için kullanılan istatistiksel değerler olan ortalama ve standart sapmalar bulunur. Bireysel verilerin ortalaması bu verilerin dağılımının merkezini ve ortalama standart hata ise verilerin merkezin iki tarafındaki dağılımını belirler (17, 35).

C_{max} ve t_{max} parametreleri ise eğer doruk konsantrasyon açıkça belirlenmiş ve doruk bölgesindeki örnekleme zamanları doğru bir biçimde saptanmış ise anlamlıdır (27).

Biyoeşdeğerlik çalışmalarında, bireysel kan konsantrasyonu – zaman eğrilerinden Ortalama Kalış Süresi (OKS, MRT - Mean Residence Time), Cl_{tot} (total klerens), $t_{1/2}$ (atılım yarı ömrü) ve λ_n (terminal atılım hız sabiti) hesaplanarak kaydedilir (31, 35). Ortalama kalış süresi, sadece aynı hayvanda damar içi uygulama sonrasında belirlenmiş olduğunda kullanılabilir. Kan konsantrasyonu – zaman eğrisinden elde edilen MRT değeri, emilim hızındaki farklılıkları belirlemede t_{max} 'a alternatif ve onunla karşılaştırılabilir bir değer olarak önerilmektedir. Eğer atılım yarılanma süresi 5 saatten az ve emilim hızı atılım hızından fazla ise bu özellikteki test ve referans formülasyonların MRT değerleri arasındaki fark, emilme hızlarındaki farklılıkların belirlenmesinde en önemli parametredir. Bununla birlikte eğer atılım yarı ömrü 5 saati aşıyorsa MRT'deki farklılıklar için % 90 güven aralığı biyoeşdeğerlik testinde genellikle çok geniştir (31, 102).

Biyoeşdeğerlik çalışmalarında karşılaştırma yapılırken EAA ve C_{max} değerlerinin istatistiksel analizin yapılabilmesi için doğal logaritmik dönüştürme işlemine tabi tutulması gerekir. t_{max} değerinin logaritması dahi normal dağılım göstermediğinden, bu değere dönüştürme işlemi uygulanmasına gerek yoktur. Logaritmik dönüştürülmüş değerlerin istatistiksel analizinde geometrik ortalama ve geometrik standart sapma kullanılmalıdır (35, 51).

2.2.6. Biyoeşdeğerlik Değerlendirmesinde Kullanılan Önemli Parametreler

EMA'nın 2010 yılında çıkardığı veteriner tıbbi ürünlerin biyoeşdeğerlik çalışma rehberine göre; tek doz biyoeşdeğerlik çalışmalarında $EAA_{(0-t_n)}$, $EAA_{(0-\infty)}$, C_{max} ve t_{max} belirlenmeli ve biyoeşdeğerlik kararı verilirken $EAA_{(0-t_n)}$ ve C_{max} değerleri temel alınmalıdır. Ayrıca farmakokinetik parametrelerin hesaplanmasında non-kompartmantal model kullanılmalıdır, diğer kompartmantal modellerin kullanılması kabul edilmemektedir. Kompartmanlı modelde her hayvanda kan konsantrasyonu – zaman

eğrisinden ilacın atılımının başladığı zamanın saptanması araştırmacıdan araştırmacıya değişebilmektedir. Diğer bir anlatımla, non-kompartmantal modelde farmakokinetik parametrelerin, kan konsantrasyonu – zaman eğrisinden gözlenen sayısal verilerle, kişisel yoruma olanak tanımaksızın elde edilmesi ve dolayısıyla daha net bir biyoeşdeğerlik değerlendirmesi sağlamasıdır (27).

2.2.7. Biyoeşdeğerlik İçin Karar Verme Ölçütleri ve Kabul Edilebilir Limitler

İki veya daha çok ürünün biyoeşdeğer olup olmadığına karar verirken sadece sayısal verilerin istatistiksel önemi değil denek içi - denekler arası değişkenliklerin tıbbi önemi de göz önüne alınmalıdır. Bazı ürünlerin biyoyararlanımındaki büyük değişkenlik, terapötik kullanım amacı veya ürünün geniş terapötik indeksi nedeniyle titiz dozaj rejimi gerektirmemesi durumunda göz ardı edilebilir (28).

Biyoeşdeğerlik için karar vermede çoğunlukla Klasik t - tabanlı güven aralığı (% 90 güven aralığı) yöntemi kullanılmaktadır (102). Klasik t - tabanlı güven aralığı yöntemine ek olarak önerilen ve genellikle tercih edilen diğer bir yöntem iki-bir yönlü test yöntemidir (27, 35, 102).

Klasik t - tabanlı güven aralığı yöntemi, test ve referans ürünlerin ortalamaları arasında fark olduğu kabul eder ve bu farklılığı belirlemede belirli bir güvenlikte hesaplamaya yarayan bir yöntemdir. Klasik t tabanlı güven aralığı (% 90 güven aralığı) yöntemine göre her iki ürünün EAA ve C_{max} değerlerinin kesinlikle aynı olmadığı kabul edilir. Genel olarak ortalamalar arasında % 20 veya daha az bir fark olması klinik açıdan önemsizdir (85).

Biyoeşdeğerlikte karar verme ölçütü olarak $EAA_{(0-t_n)}$ ve C_{max} parametreleri kullanılır. Genel kural olarak $EAA_{test/referans}$ ortalamalarının % 80 - 125 arasında ve % 90 güven aralığında olması gerekir (27, 31, 35, 102). Terapötik indeksi geniş olan ilaçlarda bu sınır biraz daha genişletilebilir. Güvenlik aralığı dar olan ilaçlarda ise biraz daraltılması tavsiye edilir (102).

C_{max} için de biyoeşdeğerlik oranı % 80 - 125 aralığındadır. Ancak bu parametre örneklemeğe bağlı olarak yada bireysel farklılıklar nedeniyle çok büyük değişkenlik gösteriyorsa % 70 - 143 aralığı kabul edilebilir (27, 31, 35).

Bazı ülkeler tarafından kabul edilen biyodeşdeğerlik kriterleri ve sınırları Tablo 2-2’de belirtilmiştir (13).

Tablo 2-2: Bazı ülkelerde kabul edilen biyodeşdeğerlik sınırları

Ülke	Kurum	EAA oranı için Kabul edilen aralık	C _{max} için Kabul edilen aralık	Açıklama
Kanada	Health Canada	% 80-125	% 80-125	Jenerik NTI/CD için sınırlar: AUC: % 90-112 C _{max} : % 80-125
Avrupa Birliği Ülkeleri	EMA	% 80-125	% 80-125	Jenerik NTI/CD’da bu sınır AUC ve C _{max} için % 80- 125’ dir. Gerekl görüldüğünde daraltılabilir.
Japonya	NIHS	% 80-125	% 80-125	NTI/CD için sınırda bir değişiklik yoktur ancak dissolüsyon profillerine bakılır.
Güney Afrika	MCC	% 80-125	% 70-133	Jenerik NTI/CD’da bu sınır AUC ve C _{max} için % 80- 125’ dir.
Avustralya	TGA	EMA kriterleri uygulanmaktadır.	EMA kriterleri uygulanmaktadır.	EMA kriterleri uygulanmaktadır.
ABD	FDA	% 80-120 (non-log) % 80-125 (log)	% 80-125 (log)	% 80-125 (log)

NTI/CD; Digoksin, lityum, varfarin gibi farmakodinamik ve terapötik ilaç konsantrasyonu yönünden izlenmesi gereken, terapötik indeksi dar ilaçlar

2.2.8. İstatistiksel Veri Analizi

Verilerin güven aralığının hesaplanmasında kullanılacak değişkenlik hatasının belirlenmesi için varyans analizi gereklidir. Bu amaçla farmakokinetik parametrelerin analizinde Varyans analizi (ANOVA - Analysis of variance) kullanılmalıdır (27).

EAA ve C_{max} değerlerinin varyans analizi yapılmadan önce verilerin logaritmaya dönüştürülmesi tavsiye edilir. Buradaki amaç; değişkenleri kararlı duruma getirmek,

parametre dağılımını normalleştirmek, kullanılan istatistiksel metodun katkısından emin olmak ve biyoeşdeğerlik aralığını bir oran veya yüzde olarak gösterebilmektir (102)

t_{max} gibi zamana bağlı parametrelerde ise bu dönüşüm uygun olmadığından non-parametrik bir yaklaşımla istatistiğinin yapılması gerekmektedir (27).

Biyoeşdeğerlik kararını verebilmek için ANOVA tablosunda bulunan belirlenmiş hata değişkenliği ile hesaplanan güven aralıkları, alt ve üst sınırları önceden belirlenmiş sınırlarla karşılaştırılmalıdır. Logaritmaya dönüşümü yapılmış değerler için % 80-125 veya % 70-143; dönüşümü yapılmamış değerler içinse % 80-120 veya % 70-130 sınırları kabul edilmektedir. Terapötik indeksi dar olan ilaçlarda sınırın daraltılması ve dönüşümü yapılmış veriler için % 90-111, dönüşümü yapılmamış veriler için ise % 90 -110 sınırı kabul edilmektedir (102).

2.3. Tilmikosin

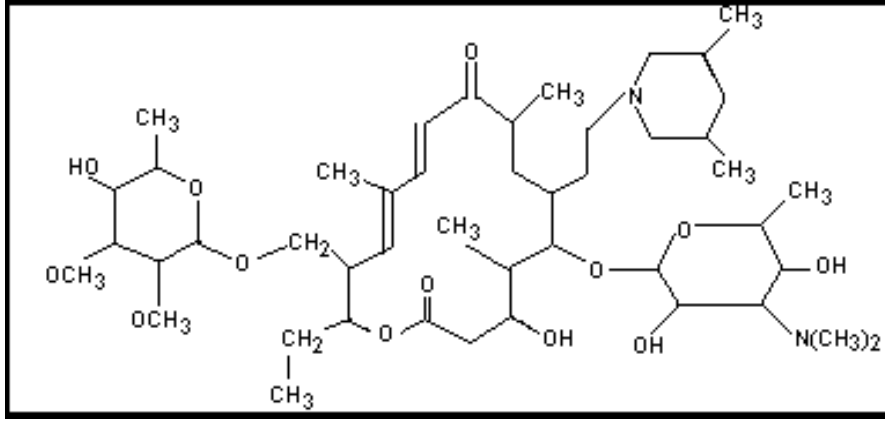
Tilmikosin, sadece veteriner kullanım için geliştirilmiş, özellikle sığır ve koyunların solunum sistemi enfeksiyonlarında sıklıkla kullanılan makrolid grubu bir antibiyotiktir.

2.3.1. Tarihçe

Makrolidler, genellikle *Streptomyces* türlerince üretilen benzer yapıdaki antibiyotiklerin oluşturduğu homojen bir gruptur (33). Temel sınıflandırması içerdikleri lakton halkasının (12- 16 arasında) büyüklüğüne göredir (43, 56). 1952 yılında, Filipinler'de topraktan izole edilen *Streptomyces erythreus* suşundan elde edilen eritromisin, makrolidlerin ilk üyesidir. 14 üyeli makrolidlerin prototipi olarak kabul edilen eritromisinin; emilim oranındaki değişiklik, kısa yarı ömrü, gastrointestinal yan etkileri ve artan direnç sorunu gibi pratikte yaşanan dezavantajları vardır. (11). *S. ambofaciens*'in oluşturduğu 16 üyeli ilk önemli makrolid olan Spiramisin ise 1953'de bulunmuştur. Daha sonra makrolid grubuna çoğu Japonya'da bulunan yeni üyeler eklenmiştir (33). 16 üyeli Tilosin 1960 yılında *Streptomyces fradie* kültüründen elde edilmiş ve tilosinden de modifiye edilerek tilmikosin geliştirilmiştir (49).

2.3.2. Yapısal Özellikleri

Tilmikosin, 20-deoxo-20-(3,5-dimethylpiperidin-1-yl) desmycosin yapısında, 16 üyeli makrolid grubu yarı sentetik bir antibiyotiktir (24, 43, 46, 54). Kimyasal yapısı Şekil 2-1'de gösterilmiştir (87).



Şekil 2-1: Tilmikosinin kimyasal yapısı

Tilmikosin, tilosinden mycarose'un ardı ardına hidrolizi ve desmycosindeki aldehitlerin 3,5-dimetilpiperidin ile redüktif aminasyonu ile modifiye edilerek üretilmiştir (24, 54). Bu yapısal değişim ile *Pasteurella* spp. ve *Actinobacillus* spp. gibi Gram-negatif bakterilere karşı antimikrobiyal aktivitesi ile oral etkinlik ve biyoyararlanımı artmış ve intrasellüler ortam, doku ve serumda daha yüksek ve kararlı bir konsantrasyon sağlanmıştır (54).

Tilmikosinin moleküler formülü $C_{46}H_{80}N_2O_{13}$, moleküler ağırlığı 869.133 g/mol'dür. Preparatlarda fosfat tuzu ($C_{46}H_{83}N_2O_{17}P$; 967,128 g/mol) kullanılır. Tilmikosin, yaklaşık olarak % 85 cis ve % 15 trans izomerlerinin karışımından oluşmaktadır. Ticari ürünlerde bu oran sırasıyla % 82-88 cis, % 12-18 trans isomer şeklindedir. pKa değeri 7,4-8,6'dır. Metanol, aseton, asetonitril, n-hekzan, etil asetat, diklorometan gibi organik solventlerde (1500 mg/L veya daha büyük) rahat bir şekilde çözünür. Sudaki çözünürlüğü büyük ölçüde pH'a bağlıdır. pH 7 ve sıcaklık 25°C koşullarında suda 566 mg/ml çözünür. Enjektabl formülasyonu 300 mg/ml tilmikosin içerir. Işıktan korunarak çalışılmalıdır (24, 36, 65, 103).

2.3.3. Antibakteriyel Spektrumu ve Endikasyon Alanı

Tilmikosin, bir çok Gram-pozitif bakteri (*Clostridium* spp., *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp.), pönomoniye sebep olan Gram-negatif bakteriler (*Pasteurella haemolytica*, *Pasteurella multocida*, *Histophilus somni*, *Actinobacillus* spp., *Campylobacter* spp.) ile Mycoplasma spp.'lere etkiyen geniş spektrumlu bir antibiyotiktir (19, 43, 103). *Enterobacter aerogenes*, *Escherichia coli*, *Klebsiella*

pneumoniae, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella* ve *Serratia* türleri ise oldukça direçlidir (43, 81, 103).

Pasteurella multocida ve *Pasteurella haemolytica*'ya karşı etkinliği daha güçlüdür ve bu bakteriler için *in vitro* post-antibiyotik etkisi gösterilmiştir (25, 44, 71).

Tilmikosinin bazı patojen bakteri türleri ve mikoplazmalara karşı *in vitro* Minimum İnhibitör Konsantrasyon (MİK) değerleri Tablo 2-3'de gösterilmiştir (43).

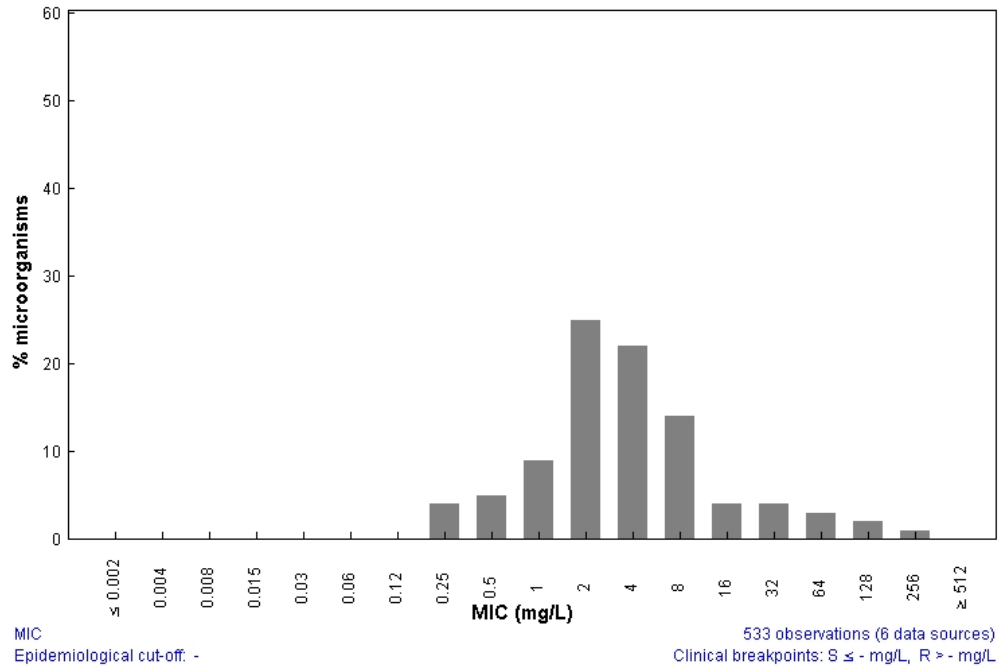
Tablo 2-3: Tilmikosine ait bazı MİK₉₀ değerleri

Bakteri türü	MİK ₉₀ (µg/ml)
Gram-positif aeroblar	
<i>Staphylococcus aureus</i>	1
<i>Streptococcus agalactiae</i>	4
<i>Arcanobacterium pyogenes</i>	0,03
<i>Erysipelothrix rhusiopathiae</i>	<0,13
<i>Rhodococcus equi</i>	32
Gram-negatif aeroblar	
<i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i>	2
<i>Histophilus somni</i>	8
<i>Pasteurella haemolytica</i>	4
<i>Pasteurella multocida</i>	16
Anaeroblar	
<i>Fusobacterium necrophorum</i>	4
<i>Clostridium perfringens</i>	4
<i>Brachyspira hyodysenteriae</i>	>64
Mikoplazma	
<i>Mycoplasma bovis</i>	>128
<i>Mycoplasma hyorhinis</i>	4
<i>Mycoplasma hyopneumoniae</i>	0,5
<i>Mycoplasma mycoides subsp.mycoides</i>	0,06
Diğer	
<i>Lawsonia intracellularis</i>	2

Tablo 2-3'e göre; *Pasteurella multocida* ve *Pasteurella haemolytica* için MİK değerleri 4 – 16 µg/ml arasında seyretmektedir. Avrupa çapında yapılan çalışmalardan elde edilen ve çok sayıda bakteri suşu için bilgi veren Antimikrobiyal Duyarlılık Testi Avrupa Komitesi (EUCAST - The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing)'ne göre tilmikosinin MİK dağılımlarını gösteren diagramlar Şekil 2-2 ve Şekil 2-3'de verilmiştir (34). Bu veriler EUCAST tarafından güncellenerek sunulmaktadır.

Tilmicosin / *Pasteurella multocida*
EUCAST MIC Distribution - Reference Database 2011-11-16

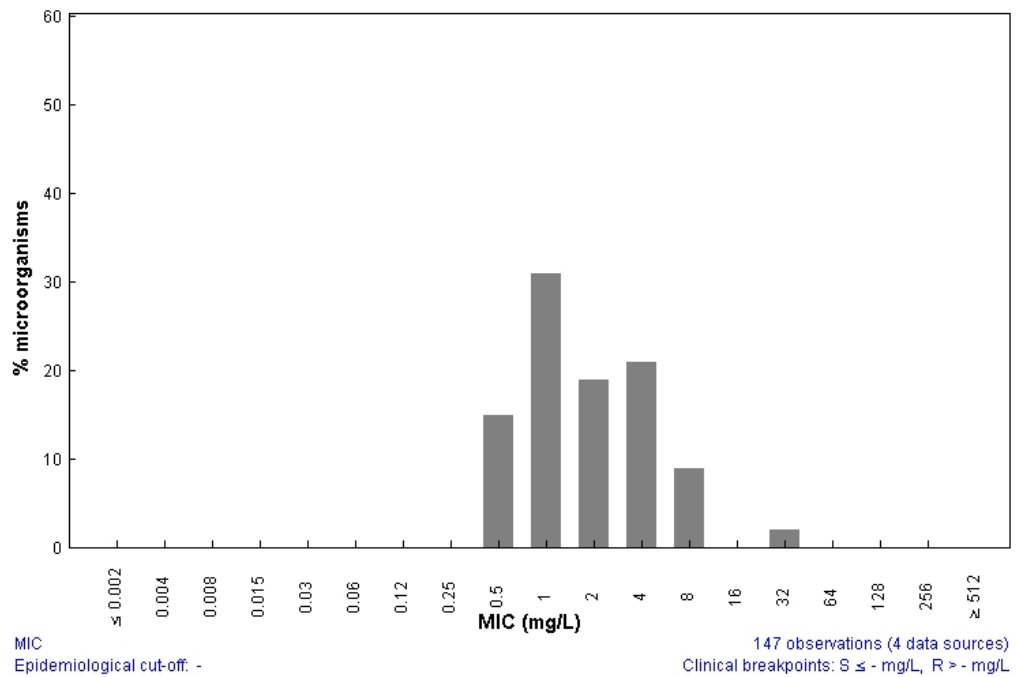
MIC distributions include collated data from multiple sources, geographical areas and time periods and can never be used to infer rates of resistance



Şekil 2-2 : Tilmikositin'in *Pasteurella multocida* için MİK dağılımları.

Tilmicosin / *Mannheimia haemolytica*
EUCAST MIC Distribution - Reference Database 2011-11-16

MIC distributions include collated data from multiple sources, geographical areas and time periods and can never be used to infer rates of resistance



Şekil 2-3: Tilmikositin'in *Pasteurella haemolytica* için MİK dağılımları

Tilmikosin içeren preparatların kullanımı birkaç hayvan türü ile sınırlıdır. Ancak sığır ve koyunlarda tilmikosine duyarlı mikroorganizmaların neden olduğu solunum sistemi enfeksiyonlarında uzun süreli sağaltıcı ve koruyucu etkiye sahip olduğu için tercih edilen bir antibiyotiktir (40, 43, 68, 70, 71, 83, 114). Besi sığırlarında koruyucu amaçla kullanıldığında duyarlı etkenlerden kaynaklanan pnömoni insidensini azaltır. Nakil öncesi metaflaktik olarak kullanımının solunum sistemi enfeksiyonlarının yaygınlığını azalttığı da bildirilmiştir (80).

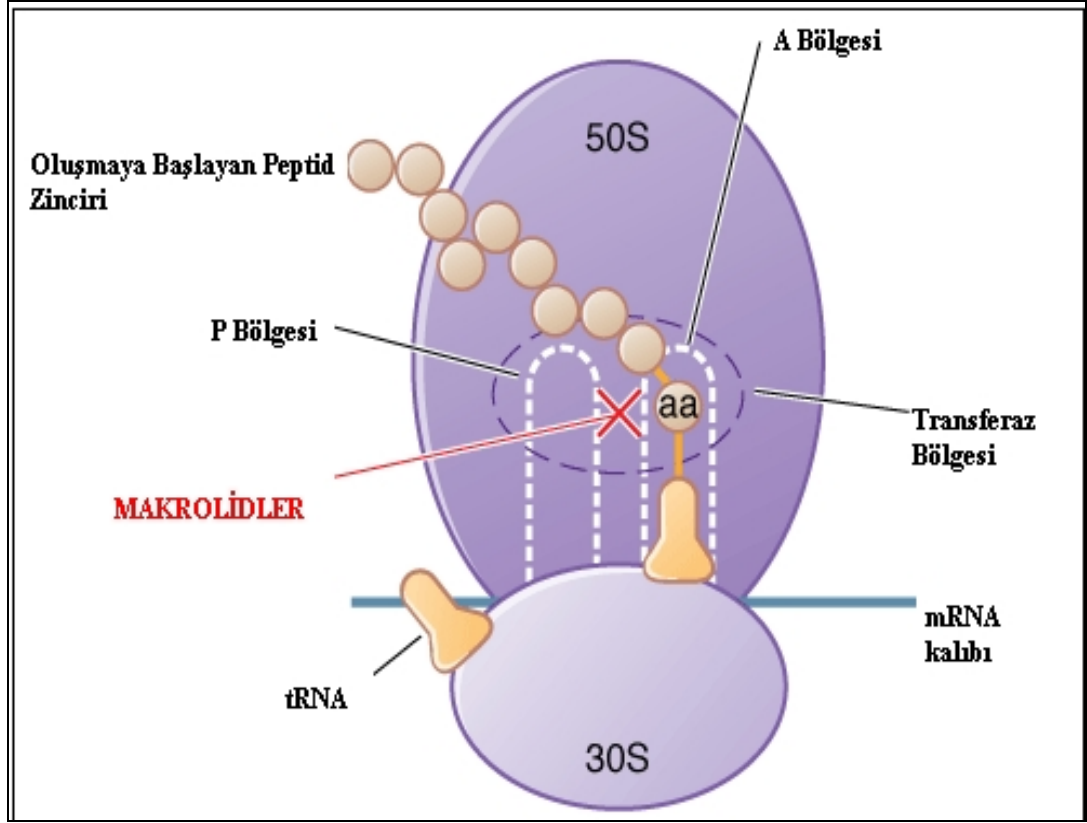
Ayrıca domuzlarda *Pasteurella multocida*, *Pasteurella haemolytica*, *Actinobacillus pleuropneumonia* ve *Mycoplasma* türleri ile ilişkili pnömonilerde koruyucu ve sağaltıcı olarak da kullanılmaktadır (43, 65, 92).

Koyunlarda *Staph.aureus*, *Staph agalactiae* ve *M.agalactiea*'nın neden olduğu mastitisin tedavisinde kullanılabileceği yapılan çalışmalarda bildirilmiştir. Ancak sütçü sığır ve koyunlarda kullanımı etiket dışıdır (43, 72).

Amerika'da koyun ve sığırların (süt üretimi için yetiştirilenler hariç) solunum sistemi hastalıklarında tedavi amacıyla tek doz deri altı uygulanması ve domuzlarda solunum sistemi enfeksiyonlarından koruyucu, kontrol ve tedavi amaçla yem katkısı olarak kullanılması onaylıdır. Avrupa Birliği ülkelerinde tavşan ve tavuklarda kullanımı onaylanmıştır. Amerika'da ve diğer birçok ülkede, etiketinde kontraendike olarak belirtilmesine rağmen etinin tüketilmemesi ve *Rhodococcus spp.* türü başta olmak üzere birçok bakteriye etki etmesi nedeniyle atlarda etiket dışı kullanım görülmektedir (19).

2.3.4. Etki Şekli

Tilmikosinin bakteriler üzerinde etkisi, diğer makrolid antibiyotiklerde olduğu gibi iki proseste açıklanır. İlk aşamada aktif transport ile duyarlı bakteri hücresinin stoplazmasına geçerler. İkinci aşamada ise 50S ribosomal alt üniteye bağlanır ve geçici olarak akseptör noktasında (A noktası) bulunan aminoasil tRNA molekülüne bağlı yeni peptid zincirinin peptidil noktasına (P noktası) kaymasını (translokasyon) inhibe eder. Translokasyondaki başarısızlık peptid zincirinin uzamasını engelleyerek protein sentezini durmasına neden olur (4, 49, 54, 75, 81, 103). Makrolid grubu antibiyotiklerin bakterilerin üzerindeki etki bölgesi Şekil 2-4 de şematize edilerek gösterilmiştir (12-düzenlenmiş).



Şekil 2-4: Makrolid grubu antibiyotiklerin etki bölgesi

Bakterinin yaşam döngüsünde gerekli olan proteinlerin üretimini engellemesi ile hedef mikroorganizma sonuçta ölür yada üremesi durur. Etkileri özellikle üremekte olan bakteri ve mikoplazmalarda daha belirgindir (4, 49, 54, 75, 81, 103). Genel olarak bakteriyostatik etkinlik göstermelerine rağmen *Pasteurella multocida*'ya karşı bakteriosidal etkisi vardır (76)

2.3.5. Antiinflamatuvar Etkinlik

Tilmikosinin antibakteriyel etkisinden bağımsız olarak antiinflamatuvar özelliği de vardır. Antiinflamatuvar etkinin mekanizmaları üzerine yoğun çalışmalar yapılmaktadır. İnterlökin-1 (IL-1), İnterlökin-6 (IL-6), İnterlökin-8 (IL-8) ve Tümör Nekrosis Faktör- α (TNF- α)' yı içeren birçok proinflamatuvar sitokinlerin üretimini inhibe eder (43). Sitokin üretiminin inhibisyonu *in vitro* olarak ve ayrıca bronşioalveolar lavaj sıvısında gösterilmiştir (43,104;kaynak Cao et al,2006 p:1022). Bu anti-inflamatuvar etkiler tilmikosin uygulanan sığır ve domuzlarda gösterilmiştir (55, 74).

Ayrıca tilmikosin uygulamasının, bakteri tarafından uyarılan prostaglandin (PGE₂) ekspresyonunu azalttığı belirtilmiştir. Alveolar makrofajlarda prostaglandin

sentezini azaltabileceği ve akciğerlerdeki lökositlerden salınan yangı mediatörlerini azaltmasına bağlı olarak antiinflamatuvar etkinliğe neden olabileceği bildirilmiştir (79).

2.3.6. Bakteriyel Direnç Gelişimi

Tilmikosine karşı oluşan direncin mekanizması diğer makrolidlerden eritromisin ve tilosine benzerlik gösterir. Makrolidlere oluşan direnç, antimikrobiyal inaktivasyon, aktif olarak ilacın dışarı atılması (eflüks) ve hedef bölge değişikliği mekanizması ile gelişir. Ayrıca tilmikosine karşı direnç gelişiminin diğer bir boyutu da makrolid grubu diğer bileşiklere dirençli suşların gelişmesi ile ilişkilidir. Çapraz nitelik gösteren bu durum, birçok bakteri türünün plazmid aracılı metilaz salgılaması sonucu 50S alt biriminin 23S RNA' sındaki adeninin dimetilasyonundan kaynaklanan hedef bölge değişikliği şeklinde bir direnç olup; tilosin ve eritromisine dirençli hale gelen patojen etkenlerin tilmikosine de direnç kazanmasına sebep olmaktadır (3, 33, 38, 43, 44).

2.3.7. Farmakokinetik Özellikler ve Kalıntı

Tilmikosinin farmakokinetiği, düşük maksimum serum konsantrasyonu – geniş dağılım hacmi ile makrolid grubu antiyotiklerin genel grup özelliklerine benzemektedir (43). Deri altı yolla uygulaması tercih edilir. Kas içi yolla da uygulanabilir. Bu şekilde verildiğinde normal dozlarda, yaklaşık 60 dakikada plazmada maksimum yoğunluğa (0,8-1,7 µg/ml) ulaşır (49). Tilmikosinin özellikle akciğerlerde birikmesi alveolar makrofajlarda yüksek oranda akümüle olması ile açıklanabilir (90). Akciğerdeki yoğunluğu tek doz deri altı uygulama sonrasında, 96. saatte dahi plazmadakinden çok daha yüksektir. Sığırlarda 10 mg/kg dozda deri altı uygulama sonrasında akciğer konsantrasyonu 3,12 µg/ml'nin üzerindedir (103). Sıçanlarda, akciğer - serum konsantrasyonlarının karşılaştırıldığı çalışmada, sağlıklı hayvanlarda bu oran 86 : 1 iken enfekte hayvanlarda bu oran 178 : 1 olarak bulunmuştur (67). Tilmikosinin klinik olarak gösterdiği başarı fagositlerle (özellikle akciğerdeki makrofajlar, kandaki monosit makrofajlar ve meme dokusundaki nötrofiller) olan etkinliği ile değerlendirilebilir. Yapılan çalışmalarda tilmikosinin, alveolar makrofajlara yüksek oranda akümüle olduğu gösterilmiştir (43, 90). Antibakteriyel ajanların hücre içi bakterilere karşı etkinlik gösterebilmeleri için fagositik hücrelere penetrasyon yetenekleri esastır (61). Tilmikosinin yüksek miktarı, fagolizozomların bakteriyi fagosite etme yeteneğini artırabilir (90).

Naccari ve arkadaşları; sağlıklı ve doğal olarak infekte olan koyunlardaki tilmikosinin farmakokinetiğini incelemişlerdir (71). Elde edilen değerler Tablo 2-4' de gösterilmiştir (71).

Tablo 2-4: Sağlıklı ve hasta koyunlarda tilmikosinin farmakokinetiği

	Enfeksiyonlu	Sağlıklı
EAA (saat µg/ml)	3247	1989
t_{1/2} (dakika)	1152	727
C_{max} (µg/ml)	1.97	1.32

Hasta hayvanlarda farmakokinetik parametrelerdeki bu artış ile beraber ilaç etkisinin de arttığı ve solunum sistemi semptomlarının (nefes darlığı, hırıltı, öksürük gibi) ortadan kalktığı, nazal akıntıdan mikroorganizma izole edilemediği belirtilmiştir. Atılım yarı ömrünün uzaması, tilmikosinin başta akciğer olmak üzere solunum sistemi dokularına akümülyasyonu ile açıklanmış; enfeksiyon ve inflamasyon durumunda bu penetrasyonunun arttığı belirtilmiştir (71).

Tilmikosinin farmakokinetiği, farklı yollar ve dozlarda çeşitli hayvan türlerinde incelenmiştir. Elde edilen farmakokinetik veriler Toblo 2-5'de verilmiştir.

Tablo 2-5: Tilmikosinin çeşitli hayvan türlerindeki farmakokinetik verileri

Hayvan Türü	EAA (saat µg/ml)	t_{max} (saat)	C_{max} (µg/ml)	t_{1/2} (saat)	Kaynak
At	6,747	6	0,26		20
Sığır	17,2	0,5	0,873	29	68
Sığır	28,42	1	0,86	29,94	10
Etçi Sığır	17,71	4,286	0,714	31,15	60
Keçi		6,39	1,56	29,3	83
Tavuk	24,24	4,66		45,0	1
Tavuk	67,96	3,99		30,18	53
Domuz	14,01	3,12	1,19	25,26	92
Tay	5,76	5,5	0,19	18,4	107
Tavşan	3,59	0,66			42

Tilmikosin yüksek yağda çözünürlük ve düşük proteinlere bağlanma (%16,8) özelliğine sahip bir antibiyotiktir (9, 103). Vücutta başlıca desmetiltilmikosine dönüştürülerek biyotransformasyona uğratılır. Ana ilaç ve metabolitleri halinde safra ile elimine edilir ve dolayısıyla ilacın en önemli atılım yolu dışkıdır. İdrarla da atılır (49). Yarılanma ömürleri uzundur (43). Uygulama yeri ve vücutta uzun süre kalır. Yaklaşık 1 ay sonra dahi uygulama yerinde 5 ppm, karaciğer ve böbreklerde ise 0,3 ppm miktarlarda bulunabilir (49).

Tilmikosin, tilosin ve diğer makrolidler gibi zayıf organik baz olduğundan hızlı ve yüksek oranda kandan süte geçer ve meme alveolar dokusunda ve sütte yoğunlaşır (45). Sütçü sığırlarda kuru döneme geçmeden önceki son süt alımını takiben yapılan deri altı yolla tek doz (10 mg/kg) uygulama sonrasında sütte 8-24 saat arasında pik seviyeye ulaştığı (6-8 µg/ml), sütteki yarı ömrünün ise 34 saat olduğu bildirilmiştir (29). Yapılan çalışmalar etki spektrumu ve farmakokinetik özellikleri nedeniyle tilmikosinin koyun ve sığırlarda meme enfeksiyonlarında da güvenli ve etkili bir şekilde kullanılabileceğini göstermiştir. Yapılan karşılaştırmalı in vitro testlerde süttten izole edilen mikroorganizmalara karşı (özellikle *Staphylococcus aureus*, koagulaz (-) *stafilokok*, *S.epidermis*) enrofloksasin, tetrasiklin, tiamfenikol ve gentamisinden çok daha etkili olduğu belirtilmiştir (72). Ancak hızlı dengeye ulaşması ve geniş doku dağılımı yanında, deri altı kullanımı sonrası süt ile yavaş atılımı karakteristik kinetik özellikleri arasında olduğundan ve sütte yaklaşık 2-3 hafta kadar MKL üzerinde kalıntı bırakabildiğinden, laktasyondaki hayvanlarda kullanılmaz. Uygulama sonrası 14-21. günlerde dozun yaklaşık % 90' ı sütle atılmaktadır (10; kaynak 14 p:22, 42).

Tilmikosin, biyotransformasyonun ilaç atılımında önemli rol oynamadığı ve parenteral yolla uygulanan ilaç formlarından biridir. Bu özellikteki ilaçlarda stereo-seçici emilim iyi gözlenemediği için cis- ve trans-stereoisomerleri saptanamamaktadır (68,kaynak Landoni&lees 1996 P:451).

Tilmikosin deri altı uygulamasından sonra enjeksiyon bölgesinde önemli miktarda kalıntı bulunabilir. Tüm türlerde bildirilen kalıntının büyük kısmı ana bileşenden ibarettir ve özellikle karaciğerde olmak üzere böbrekte de birikir (29).

İnsan tüketimi için süt elde edilen inek ve koyunlara kullanımı onaylı değildir (10, 39, 43, 49). Avrupa İlaç Ajansı'nın (EMA) raporuna göre tilmikosinin sığır

sütünde bulunmasına izin verilen maksimum kalıntı limiti (MKL) 50 µg/kg olarak bildirilmiştir (30) .

Avrupa İlaç Ajansının (EMA), uyum yasaları gereği ülkemizde de Resmi gazetede 29.04.2011 tarih ve 27919 sayı ile yayınlanan “Türk Gıda Kodeksi-Hayvansal Gıdalarda Bulunabilecek Veteriner İlaçlarına Ait Farmakolojik Aktif Maddelerin Sınıflandırılması ve Maksimum Kalıntı Limitlerinin Belirlenmesi Hakkında Tebliği (2011/20)” ne göre tilmikosinin hayvansal kökenli gıdalarda bulunabilecek MKL Tablo 2-6’da gösterilmiştir (86).

Tablo 2-6: Tilmikosinin maksimum kalıntı limitleri

Farmakolojik aktif madde	Belirleyici Kalıntı	Hayvan Türleri	MKL	Hedef Organlar	Diğer Talimatlar
Tilmikosin	Tilmikosin	Kanatlı Hayvanlar	75 µg/kg	Kas	Kas için verilen MKL, balıklarda kas ve derinin doğal oranları içindir. Yağ, karaciğer ve böbrek için verilen MKL balıkta uygulanmaz. Yağ için verilen MKL, kanatlı hayvan ve domuzlarda yağ ve derinin doğal oranları içindir. Yumurtası insan tüketimine sunulan hayvanlarda kullanılmaz.
			75 µg/kg	Deri-yağ	
			1000 µg/kg	Karaciğer	
			250 µg/kg	Böbrek	
		Gıda Elde Edilen Diğer Türler	50 µg/kg	Kas	
			50 µg/kg	Yağ	
			1000 µg/kg	Karaciğer	
			1000 µg/kg	Böbrek	
			50 µg/kg	Süt	

2.3.8. Farmakodinamik Özellikler

Makrolid grubu antibiyotikler birçok Gram - pozitif ve Gram - negatif bakteriye etkinlik göstermelerinin yanı sıra memeli dokularına da iyi derecede penetre olurlar ve memeli hücrelerinde yüksek konsantrasyonda bulunabilirler. Bu farmakokinetik özellikleri nedeniyle; özellikle intrasellüler mikroorganizmaların (*P. multocida*, *Rodococcus spp.*, *Mycoplasma spp*) neden olduğu solunum sistemi enfeksiyonlarında

tercih edilen bir antibiyotik grubudur (6, 26, 75). Etki edecekleri enfeksiyon bölgesinde MİK üzerinde geçen zaman ($T > MİK$) antibakteriyel etkinliklerini belirleyen en önemli parametredir (5, 57, 75, 105, 111). Normal terapötik konsantrasyonlarda bakteriostatik etki gösterirken yüksek dozlarda bakterisidal etki oluştururlar (20, 43, 44, 71). Post antibiyotik etkileri uzundur ve MİK üzerinde seyreden 24 saatlik eğri altı alan ($MİK > EAA_{24}$) fazladır (5, 111). Ayrıca makrolidlerin patojen bakterilerde hastalık yapıcı faktörlerin (dermonekrotik toksin, RTX toksini, endotoksin-LPS, leukotoksin, sialogiloproteaz vs.) üretiminde olumlu değişiklikler yarattığı da bildirilmiştir (25).

Makrolid grubu antibiyotiklerin genel farmakokinetik özelliklerini taşıyan tilmikosin, SC uygulanmasını takiben plazmadan hızla ayrılır ve akciğerde plazmadakinden çok daha yüksek konsantrasyonlarda bulunur (49, 67, 103). Bu farmakokinetik özelliği, ölçülen plazma konsantrasyonlarının in vitro şartlarda öngörülen MİK değerinden daha düşük olmasına rağmen klinik olarak etkinliğinin yüksek olmasını açıklamaktadır. Dolayısı ile $C_{max}/MİK$, $EAA/MİK$ ve $T > MİK$ değerleri gibi farmakokinetik/farmakodinamik (FK/FD) yaklaşımlarla tedavi açısından öngörüle bulunmak her zaman çok mümkün değildir. Ancak genel olarak $T > MİK$ olması istenir (57).

Dierra ve ark. tarafından tilmikosinin postantibiyotik etkinliğinin araştırıldığı çalışmada; *P. multocida*, *P. haemolytica* ve *A. pleuropneumoniae* ve *B. bronchiseptica* 'ya MİK değerinin yarısında dahi postantibiyotik etki'ye sahip olduğu gösterilmiştir. Ayrıca postantibiyotik etkinin, *P. multocida* ve *A. pleuropneumoniae* 'ya karşı tilosin ve apramisine göre daha uzun olduğu belirtilmiştir (25).

Deri altı yolla tek doz (10 mg/kg) uygulama sonrasında akciğerlerdeki konsantrasyonu *P. haemolytica* için 72 saat boyunca MİK değerinin üzerinde seyreder. Bazı hayvanlarda üç gün sonra enjeksiyon tekrarı gerekebilir (43).

2.3.9. Yan Etkiler

Ölümlere yol açabileceğinden tüm türlerde damar içi uygulamadan kaçınılmalıdır. Test edilen tüm türlerde görülen en önemli yan etkisi kardiyotoksisitedir. Kalp kasındaki başlıca etkileri taşikardi ve kasılma gücünde azalma (negatif inotrop etki) olarak ortaya çıkar. Bu etkisinin kalp kası hücrelerinde kalsiyum kanalının bloke

edilmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Sığırlarda çeşitli dozlarda yapılan çalışmalarda deri altı 10, 30 ve 50 mg/kg doz uygulamalarda hiçbir ölüm vakası görülmemiş bununla beraber enjeksiyon yerinde ödem gözlenmiştir. Yüksek doz (50 mg/kg) uygulanan grupta nekropside minimum düzeyde miyokardiyal nekroza rastlanmıştır. Deri altı 150 mg/kg uygulamada ise ölümler görülmüş nekropside miyokardiyal nekroz saptanmıştır. 5 mg/kg dozun damar içi uygulamasının ise sığırlarda ölüme yol açtığı belirtilmiştir. Yapılan çalışmalarda keçi, at ve domuzlarda kas içi ve deri altı uygulamalarda da toksik etkilerin görülebileceği belirtilmiştir. Köpeklerde 2,5 µg/kg dozun damar içi uygulaması sonucunda sinus taşikardi, miyokard depresyonu ve arteriyel kan basıncının düşmesi ile gelişen kardiyovasküler semptomlar, kasılma ve konvülsyonlar, hızlı solunum ve şiddetli durumlarda ölüm bildirilmiştir. Bu nedenle tüm türlerde damar içi uygulamanın ölümcül olabileceği bildirilmiş, koyun ve sığırlarda deri altı uygulama yapılması gerektiği bildirilmiştir (100, 103). Yazar ve ark. tarafından yapılan çalışmada tilmikosinin olası kardiyotoksik etkilerini belirlemek için Balb/C farelerde tek doz (25 mg/kg) tilmikosin uygulanmış ve kalp kası ve serum Kreatin kinaz (CK) etkinliği incelenmiştir. Çalışma sonucunda tavsiye edilen doz ve uygulama yolu ile, tilmikosinin serum kreatin kinaz aktivitesini olumsuz etkilemediği bununla beraber kalp kasında kreatin kinaz aktivitesini ve serum total protein seviyesini geçici olarak artırdığı belirtilmiştir (108).

Tavşan ve farelerde yapılan deneysel çalışmalarda, terapötik dozlarda hematolojik ve biyokimyasal parametrelerde önemli bir değişikliğe sebep olmadığını ancak eritrosit (RBC) ve lökosit (WBC) sayısında geçici bir azalma görülebileceği (8, 109) ve yüksek dozlarda (75 mg/kg) karaciğer malondialdehit (MDA) ile glutatyon (GSH) seviyelerini artırdığı, ayrıca karaciğerde lipid peroksidasyona neden olabileceği bildirilmiştir (109).

Deri altı uygulamada enjeksiyon yerinde geçici ve hafif bir şişlik, kızarıklık görülebilir (100, 103).

FDA'nın verilerine göre tilmikosin içeren enjektörün enjeksiyonu yapan veteriner hekim veya veteriner teknisyenine kazara batması sonucu 2004 yılına kadar dünyada 14 ölüm vakası bildirilmiştir. Sadece veteriner kullanımı için üretilmiş olan tilmikosin preparatlarında üretici firma tarafından insanlara enjekte edilmesinin ölümlere sebep olabileceği ve sadece veteriner hekimler tarafından uygulama yapılmasına dair uyarı propektüslerde belirtilmektedir (73).

2.3.10. Farmasötik Şekiller ve Sağaltım Dozu

Sığır ve koyunlarda kullanım için enjektabl formulasyonu ve domuzlar için premiks formulasyonları ve sığır, tavuk, hindi ve domuzlar için oral süspansiyonları mevcuttur.

Ülkemizde Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı tarafından ruhsatlı 33 adet tilmikosin içeren preparat vardır. Bunların 1'i ithal 19'u yerli olmak üzere 20 tanesi besi sığırları ve koyunlarda kullanımına izin verilen enjeksiyonluk çözeltilerdir. Geri kalan 13 yerli preparat ise etçi hindi ve tavuklarda kullanılmak üzere üretilmiş oral çözeltili formundadır. Tilmikosin içeren premiks ise bulunmamaktadır (88).

Sığır ve koyun için tavsiye edilen doz deri altı yolla 10 mg/kg canlı ağırlıktır (49, 103). Tek doz şeklinde uygulanan bu doz ile sağlanan akciğer konsantrasyonu 72 saat süresince *Pasteurella haemolytica* için MİK değerinin üzerinde seyretmektedir (43). Besi sığırlarında solunum yolu enfeksiyonlarında nakil öncesi metafilaktik amaçla deri altı yolla tek doz 10 mg/kg uygulama önerilir (80).

Domuzlarda pönomonilere karşı koruyucu ve sağaltıcı amaçla kullanımı için deri altı yolla 10 mg/kg uygulanır, bu miktar 30 mg/kg'a kadar artırılabilir. Solunum sistemi enfeksiyonlarında koruma sağlamak için yem premiks ve oral süspansiyonları vardır (80). Sağaltım için genellikle tek uygulama yeterlidir (49, 103). Bazı hayvanlarda üç gün sonra tekrar dozu gerekebilir (43). Avrupa ülkelerinde tilmikosin içeren farmasötik şekiller, kullanılan hayvan türleri ve ruhsat sahibi bulunan ülkelerin listesi Tablo 2-7'de verilmiştir.

Tablo 2-7: Avrupa’da tilmikosin preparatlarının kullanımı

Farmasötik şekil	Miktar	Kullanılan ülkeler	Hayvan Türü	Kaynak
Enjeksiyonluk çözelti	300 mg/ml	Avusturya, Belçika, Çek Cumhuriyeti, Almanya, Macaristan, Yunanistan, İrlanda, Polonya, İtalya, Hollanda, Fransa, Portekiz, Slovakya, İspanya, İngiltere	Sığır Koyun	97 32
Oral solüsyon	250 mg/ml	Avusturya, Belçika, Çek Cumhuriyeti, Fransa, Almanya, Yunanistan, Macaristan, İrlanda, İtalya, Hollanda, Polonya, Portekiz, Slovakya, İspanya ,İngiltere, Güney Kıbrıs , Romanya	tavuk (broiler) hindi domuz sığır	58
Premix	40g/1000g	Avusturya, Belçika, Çek Cumhuriyeti, Fransa, Almanya, Yunanistan, Macaristan, İrlanda, İtalya, Hollanda, Polonya, Portekiz, Slovakya, İspanya, İngiltere, Güney Kıbrıs, Luksemburg , Romanya, Latviya ve Danimarka	Domuz	59

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Hayvanlar

Hayvanlara yapılan tüm uygulamalar, İstanbul Üniversitesi Hayvan Denepleri Etik Kurulu'nun 27.10.2008 tarih ve 113 sayılı kararı ile alınan etik kurul kararı çerçevesinde gerçekleştirilmiştir.

Çalışmada, İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Araştırma ve Uygulama Çiftliği'nden temin edilen Kıvırcık ırkı, 1 - 4 yaş aralığında, 39 - 79 kg arası canlı ağırlığa sahip 10 adet koyun ve 10 adet koç kullanıldı. Hayvanların genel sağlık muayenesi yapıldıktan sonra, daha önceden temizlenmiş ve dezenfeksiyonu yapılmış hastane bokslarında 2 haftalık adaptasyon süresi için aynı bakım ve beslenme şartları altında kalmaları sağlandı. Bütün koyunlara 500 g/gün miktarda toklu besi yemi, ad libitum düzeyde kuru ot ve su verildi.

Koyunlar rastgele seçilerek her grupta 5 dişi – 5 erkek olacak şekilde iki gruba (Tablo3-1) ayrıldı.

Tablo 3-1: Gruplara göre canlı ağırlık dağılımı

A Grubu		B Grubu	
Kulak No	Canlı Ağırlık(kg)	Kulak No	Canlı Ağırlık(kg)
044	58	319	47
324	43	560	79
096	49	250	54
711	51	348	70
253	40	98	67
321	48	315	43
176	73	085	39
092	66	771	49
740	76	269	45
367	49	064	47
Ort: 55,3		Ort:54	

3.2. İlaçlar

Çalışmada tilmikosin baza eşdeğer tilmikosin fosfat (300 mg/ml) içeren orijinal preparat ve jenerik bir preparat kullanıldı. Ürünler piyasadan satın alınarak temin edildi.

Hekimlerden alınan bilgiler doğrultusunda sahada en çok tercih edilen ürün jenerik preparat olarak seçildi.

3.3. İlaçların Uygulaması

İlaçlar, propektüslerinde belirtilen dozda (10 mg/kg) koyunlara, ön ayakların arkası ve kaburgaların üst kısmından deri altı yolla ve tek doz olarak uygulandı.

3.4. Örneklerin Toplanması

Kan örneklerini toplamak amacı ile vakumlanmış 8 ml hacimde jelli serum tüpleri (Vacuette, Z Serum Sep Clot Activator, Greinerbio-one) kullanıldı. Örnekler, ilaç uygulamasından önce V. jugularis 'den (0. zaman) ve uygulamadan sonra 15. ve 30. dakikada ve 1., 2., 3., 4., 6., 8., 12., 24., 48., 72., 96.saatlerde ve yaklaşık 8 ml olarak alındı. Örnekler alındıktan sonra 3000 devirde 15 dakika santrifüj edildi (68, 83, 92). Jel yardımı ile ayrılan serum önceden koyun numarası ve alınma zamanı belirtilmiş etiketlerle numaralandırılan ependorf tüplerine alınarak analize kadar derin dondurucuda -20 °C'de saklandı (53, 68, 92)

3.5. Kimyasal Maddeler

- Tilmikosin, Vetranal Analytical Standart (Fluka,Kod:33864)
- Tilosin tartarat (Ningxia Duoweitairui Pharmaceutical Co.Ltd. (Batch No:20100405)
- Asetonitril (for HPLC, Scharlau,Kod: AC03332500)
- Metanol (CHROMASOLV for HPLC, Sigma-Aldrich, Kod: 34885)
- Amonyum format (% 9, Acros Organics, Kod: 168610010)
- Triflouro asetik asit (HPLC grade, AppliChem, Kod:UN2699)
- Amonyum Hidroksit Solu (% 26, Riedel-de Haën,Kod: 05003)
- Asetik Asit (% 100, Sigma-Aldrich, Kod: 27225)

3.6. Kullanılan Alet ve Malzemeler

- Otomatik Karıştırıcı, Vortex, Elektro-mag,M-16
- Hassas Terazı, Shimadzu, Libror AEL-40SM
- Ultrasonik Banyo, Nersetech,NRS50-2

- Vakum degazer, Heraeus, HANAU, VEV 7204036
- pH metre, Orion, Model SA720
- Santrifuj Nüve NF 800 R
- Vakum Manifold,
- Vakum Manifold Pompası, Rotavac, Heidolph,591.001.00.00.0
- SPE (Solid Phase Extraction - katı faz ekstraksiyon) kolon, Applied Separations, Code:12006, Octadecyl, C18/% 18, 500 mg, 6 ml
- Holder Uyumlu Enjektör Ucu, Vacuette, Greiner bio-one, 21 G x 1 ½ “
- 0,45 µm filtre, Millipore Millex- HV, Hydrophillic PVDF

3.7. HPLC Sistem ve Mobil Faz

HPLC sistemi çalışma koşulları ve mobil faz Chan ve ark.'a (16) göre ayarlandı.

- HPLC, Shimadzu, CBM-10A, CLASS-LC10 VERSİON 1
- Rheodyne, manuel enjektör loop 20 µl
- Guard-kolon ve kartuşu, Inertsil ODS-3 5 µm, (4.0 x 20 mm x 2)
- Kolon, Inertsil ODS-3, 250 x 4,6 mm, 5 µm
- UV dedektör, KNAUER, K-2501, UV dalga boyu:287

Mobil Faz:

- Amonyum format (0.1 M, pH = 5 TFA ile) % 60
- Asetonitril % 30
- Metanol % 10

Akış hızı: 1 ml/dak

Kolon önce 30 dakika % 100 metanol sonra 30 dakika asetonitril-su (75-25) geçirilerek aktive edildi.

3.8. Deney Prosedürü

Çalışmamızda iki ilaç test edildiğinden iki- periyotlu, iki- ardışıklı çapraz geçişli tasarım kullanıldı (35). Klinik uygulama kısmı iki dönemde gerçekleştirildi. İlk dönemde A grubuna orijinal ilaç, B grubuna jenerik ilaç uygulandı. 2. döneme geçmeden önce ilaçların vücuttan tamamen arınması için 14 günlük bir arınma (washout) süresi beklendi. 2. dönemde A grubuna jenerik ilaç, B grubuna ise orijinal ilaç uygulandı.

3.9. Amonyum Format (0,1 M) Çözeltisinin Hazırlanması

6,306 g amonyum format tartılarak 1000 ml ultra saf su ile çözdürüldü. Trifloroasetik asit ile pH'ı 5,0 'a ayarlandı.

3.10. Mobil Fazın Hazırlanması

Hazırlanan 0.1 M amonyum format çözeltisinden 600 ml, 300 ml asetonitril ve 100 ml metanol 0,45 µm filtre ile süzöldükten sonra karıştırıldı ve ultrasonik banyo ile degaze edildi. Çözeltiiler günlük olarak hazırlandı.

3.11. Standart Solüsyonların Hazırlanması

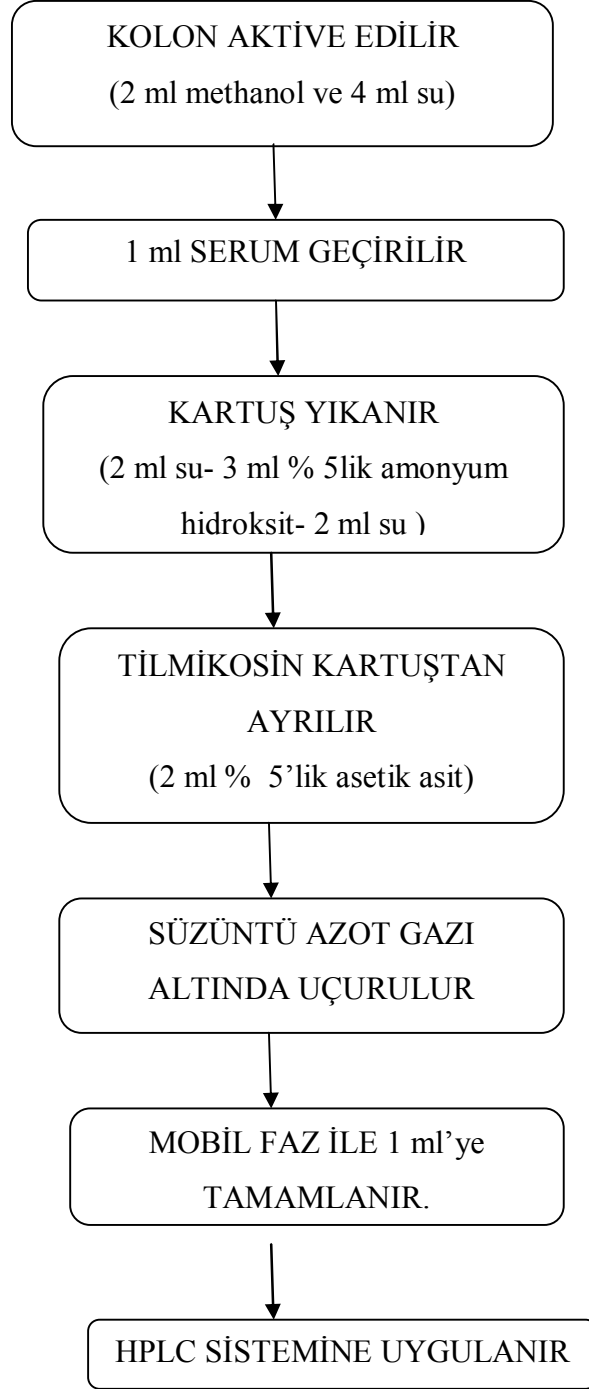
Tilmikosin'in standart solüsyonlarını hazırlamak için 0,01156 g tilmikosin standartı (% 86,5) tartılarak metanol ile 10 ml'ye tamamlandı. Bu stok solüsyon dilue edilerek değişik konsantrasyonlarda dilüsyonlar hazırlandı. Stok solüsyon +4 °C'de muhafaza edildi.

Ekstraksiyon işlemi sırasında seruma iç standart olarak katılan tilosin tartarat standartını hazırlamak için 0,01052 g (% 95) tartılarak metanol ile 10 ml'ye tamamlandı. Bu stok solüsyon dilue edilerek değişik konsantrasyonlarda dilüsyonlar hazırlandı. Stok solüsyon + 4°C'de muhafaza edildi.

3.12. Ekstraksiyon Yöntemi

Elde edilen 560 adet serum numuneleri; Modric ve ark (68), Moran ve ark. (69), Avcı (10) ve Keleş ve Ark. (53) tarafından kullanılan ekstraksiyon metodlarından modifiye edilerek uygulandı. Buna göre 500 mg C18 içeren katı faz ekstraksiyon kartuşları üretici firmanın önerdiği şekilde 2 ml methanol ve 4 ml su ile aktive edildi. Aktive edilmiş kartuştan içine 1 µg/ml konsantrasyonda iç standart solüsyonundan eklenmiş 1 ml serum geçirildi. Daha sonra kartuş önce 2 ml su ardından 3 ml suda hazırlanmış % 5'lik amonyum hidroksit ve 2 ml su ile yıkandı ve bu sıvı atıldı. 2 ml metanolde hazırlanmış % 5'lik asetik asit kartuştan geçirilerek tilmikosinin ayrılması sağlandı. Bu işlemler, 0,5 - 1,5 ml/dakika akış hızına ayarlanmış vakum altında yapıldı. Toplanan süzöntü azot gazı altında uçuruldu. Numune 1 ml mobil faz ile sulandırıldıktan sonra HPLC sistemine enjekte edildi.

Ekstraksiyon metodu Şekil 3-1'de akış şeması şeklinde gösterilmiştir.



Şekil 3-1: Ekstraksiyon İşlemi Akış Şeması

3.13. Yöntemin Validasyonu

Çalışmaya başlamadan önce kullanılacak yöntemin geçerliliğini gösteren validasyon işlemleri yapılmıştır.

3.13.1. Kalibrasyon Eğrisi ve Doğrusallık (Calibration Curve and Linearity)

Kalibrasyon eğrisini oluşturmak amacı ile hazırlanan tilmikosin stok solusyondan 0,05, 0,1, 0,2, 0,5, 1, 2, 5 µg/ml konsantrasyonlarda standart solüsyonları hazırlandı. Bu standart solüsyonların analizi sonucu elde edilen verilerle kalibrasyon eğrisi oluşturuldu.

Çalışmada iç standart olarak kullanılan tilosin stok solüsyonundan 0,5, 1, 2, 5, 10 µg/ml standart solüsyonlar hazırlandı.

3.13.2. Kesinlik ve Doğruluk (Precision and Accuracy)

Metodun kesinlik ve doğruluğunu saptamak amacıyla tilmikosin stok solüsyonundan değişik konsantrasyonlarda standart solüsyonlar hazırlandı. Kesinliğin saptanabilmesi için gün içi ve günler arası tekraredilebilirlik (r) kullanıldı. Bu amaçla 1 µg/ml konsantrasyonundaki standart solüsyondan günde 5 defa ve 5 gün süreyle uygulama yapıldı. Böylelikle ölçümlerin kesinliği araştırıldı.

3.13.3. Saptama Limiti (Limit of Detection) ve Kantitasyon Limiti (Limit of Quantitation) belirlenmesi

En düşük miktarda elde edilen miktarın 10 kere yapılan tekrarlı ölçümlerinde elde edilen standart sapmanın 3 katı ile saptama limiti, 6 ya da 10 katı ile ise kantitasyon limiti belirlenmiştir (106).

3.13.4. Geri Kazanım (Recovery)

Geri kazanım yüzdesini belirlemek için 1 ml serum içine, içinde 0,1, 1 ve 5 µg/ml konsantrasyonlarda, olacak şekilde tilmikosin standart solüsyonundan eklendi. Her konsantrasyon için tekrarlı analizler yapıldı.

3.13.5. Stabilité

Sıfırncı zamanda alınan serum örneklerine tilmikosin standart solüsyonlardan 0,5 ve 1 µg/ml konsantrasyonlarda içecek şekilde eklendi. İki eritme - dondurma işlemi sonrası geri kazanım yüzdeleri belirlendi.

3.14. Farmakokinetik Verilerin Analizi

Her hayvanda tilmikosin serum konsantrasyon – zaman eğrileri WinNonLin (WinNonLin® Professional Version 4.1, Pharsight Corporation, Scientific Consulting Inc. North Carolina, USA) programı yardımı ile hazırlandı. EMEA'nın 16 Temmuz

2010 tarihli Veteriner Medikal Ürünler için Biyoeşdeğerlik Çalışmalarının Yürütülmesi Rehberi'ne göre farmakokinetik parametrelerin belirlenmesinde non-kompartmantal model analizi kullanıldı (27).

3.15. İstatistiksel Analiz

Tüm değerler ortalama \pm standart sapma olarak olarak gösterildi. Zaman parametreleri harmonik ortalama \pm standart sapma olarak hesaplandı. Her iki ilaç için değerlendirilen farmakokinetik parametreler arasındaki istatistiksel farklılıklar SSPS 10.0 istatistik paket programı kullanılarak *Paired Samples T* testi ile değerlendirildi. Zaman parametrelerinde ($t_{1/2}$ ve MRT) ise istatistiksel farklılık nonparametrik *Wilcoxon Signed Rank* testi ile değerlendirildi.

Tilmikosin için metodun gün içi ve günler arası farklılıklarının ifadesinde standart sapma ve varyasyon katsayısı dikkate alındı.

Tüm analizlerde güven aralığı % 90 olarak kabul edildi. İstatistiksel anlamda önemlilik sınırı olarak $P < 0,05$ değeri dikkate alındı (27).

4. BULGULAR

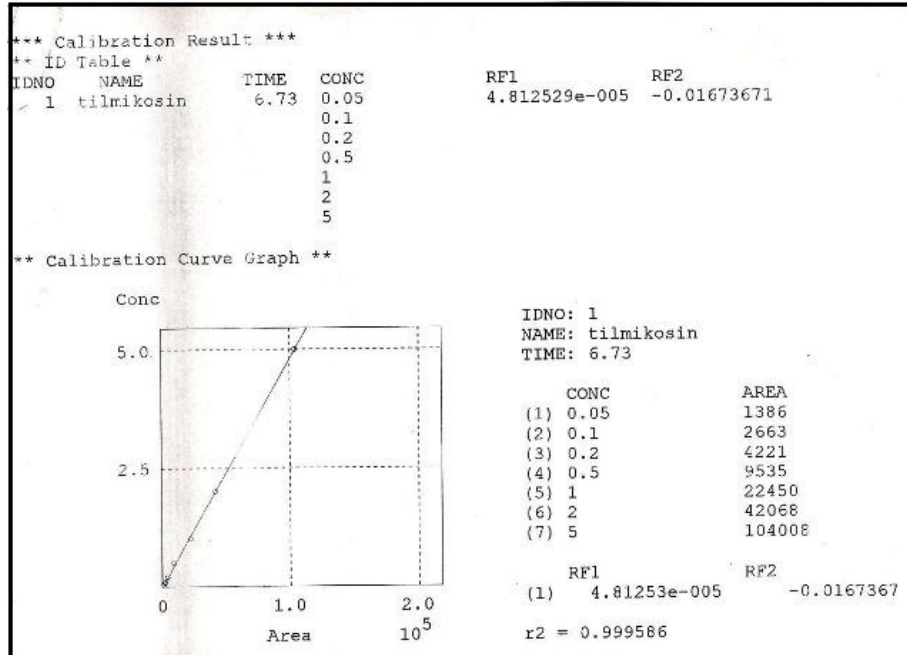
4.1. İlaçların Etken Madde Miktarına Ait Bulgular

Kalite kontrol amacı ile yapılan ölçümlerde etken madde miktarı orijinal ilaçta 294 mg/ml, jenerik ilaçta ise 306 mg/ml olarak saptandı. EMEA'nın 2010 yılında çıkardığı veteriner tıbbi ürünlerin biyoeşdeğerlik çalışma rehberine göre jenerik ilaç ile orijinal ilaç içindeki etken madde miktarları arasındaki fark \pm % 5'ten fazla olmamalıdır (27). Elde ettiğimiz değerler arasındaki fark (\pm % 4) bu kritere uymaktadır.

4.2. Serumda Tilmikosin Konsantrasyonunu Saptamak Amacıyla Kullanılan Yöntemin Validasyonuna Ait Bulgular

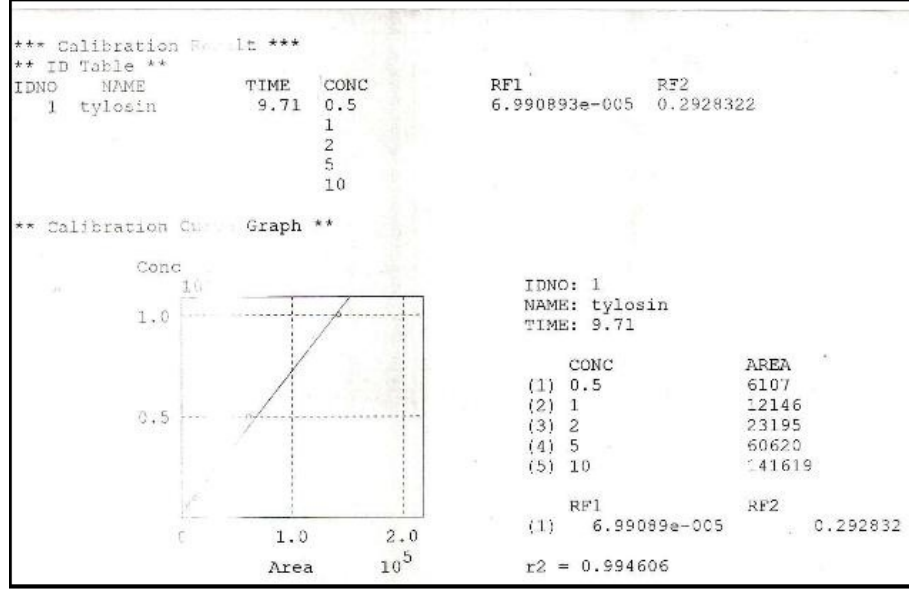
4.2.1. Kalibrasyon Eğrisi ve Doğrusallık

Tilmikosinin standart solüsyonlarından elde edilen verilerle kalibrasyon eğrisinin 0,05 - 5 μ g/ml konsantrasyonları arasında doğrusal olduğu görüldü ($r^2= 0,999586$) (Şekil 4-1).



Şekil 4-1: Tilmikosin standart solüsyonlarından elde edilen kalibrasyon eğrisi ve doğrusallık

İç standart olarak kullanılan tilozin standart solüsyonlarından elde edilen kalibrasyon eğrisinin (Şekil 4-2) 0,05 - 10 µg/ml konsantrasyonları arasında doğrusal olduğu görüldü. ($r^2=0,994606$)



Şekil 4-2: Tilozin standart solüsyonlarından elde edilen kalibrasyon eğrisi ve doğrusallık

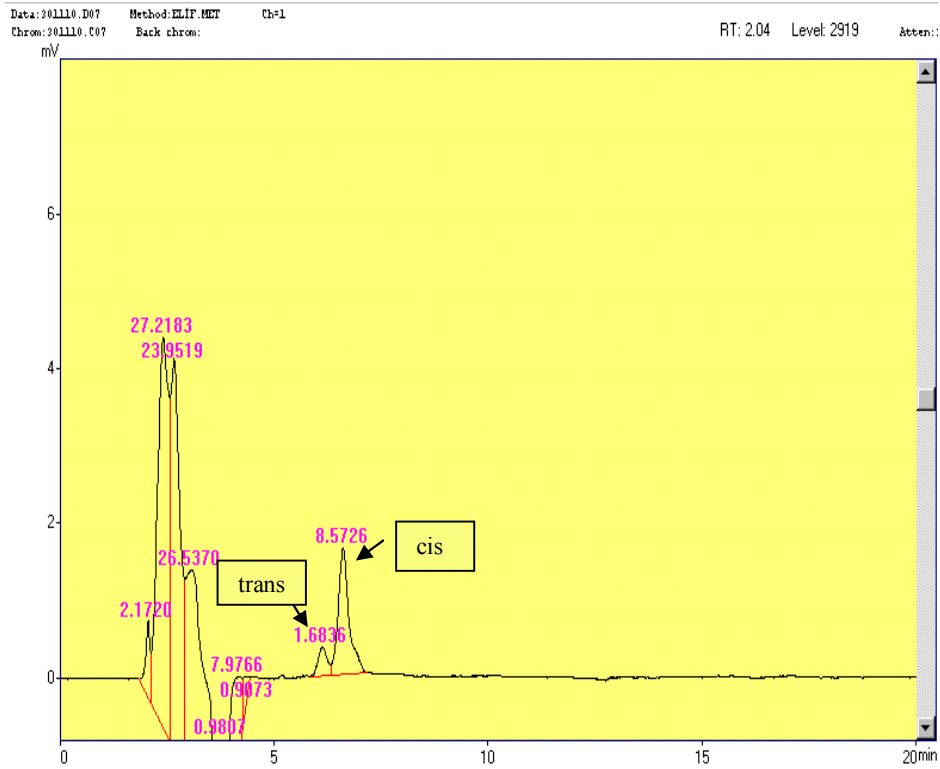
4.2.2. Kesinlik ve Doğruluk

Artan konsantrasyonlarda standart solüsyonların analizi ile elde edilen kromatogramların alanlarının aynı oranda arttığı gözlemlendi. Gün içi ve günler arası değişkenlikleri saptamak için 1 µg/ml konsantrasyonundaki standart solüsyondan günde 5 defa ve 5 gün süreyle yapılan analizler sonucu elde edilen veriler değerlendirildi (Tablo 4-1). Tilmikosinin alıkonma süresi (retention time) 6,5-7,2 dakika olarak tespit edildi. 1 µg/ml konsantrasyonda tilmikosin standardının kromatogramı Şekil 4-3'de verilmiştir.

Tablo 4-1: 1 µg/ml konsantrasyonundaki Tilmikosine ait Gün içi ve Günler arası Değişkenlikler

	1. Gün	2. Gün	3. Gün	4. Gün	5. Gün	Günler Arası
Ortalama Alan	31950	31175	27534	29545	28678	29776
Standart Sapma	3299	2500,8	1774,6	1308,5	1456	1800,5
Varyasyon Katsayısı (%)	10,32	8,02	6,44	4,42	5,07	6,04

n=5



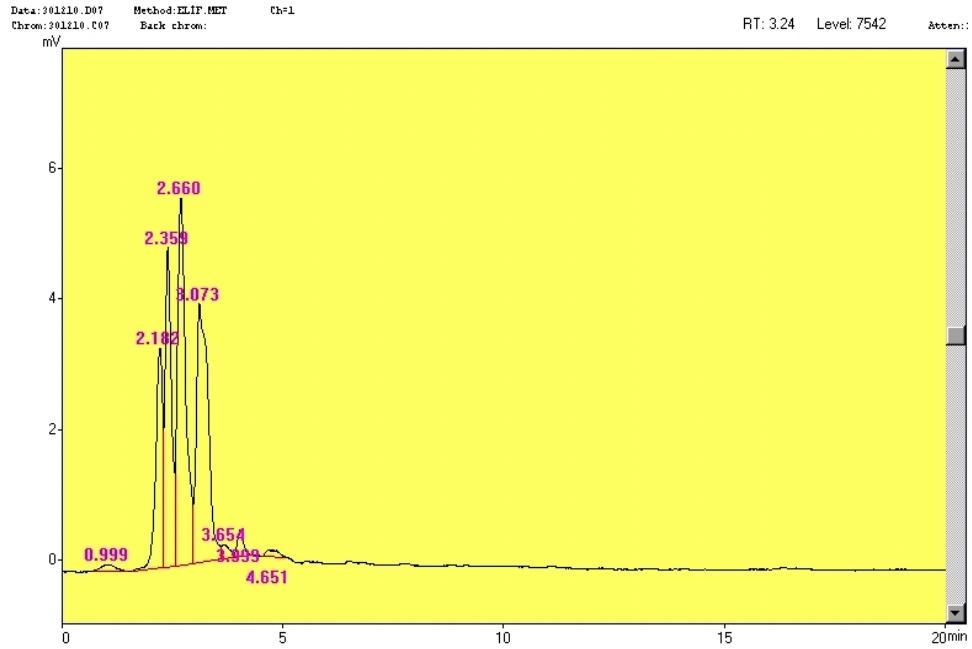
Şekil 4-3: 1 µg/ml konsantrasyonda tilmikosin standart içeren kromatogram

4.2.3. Saptama ve Kantitasyon Limiti

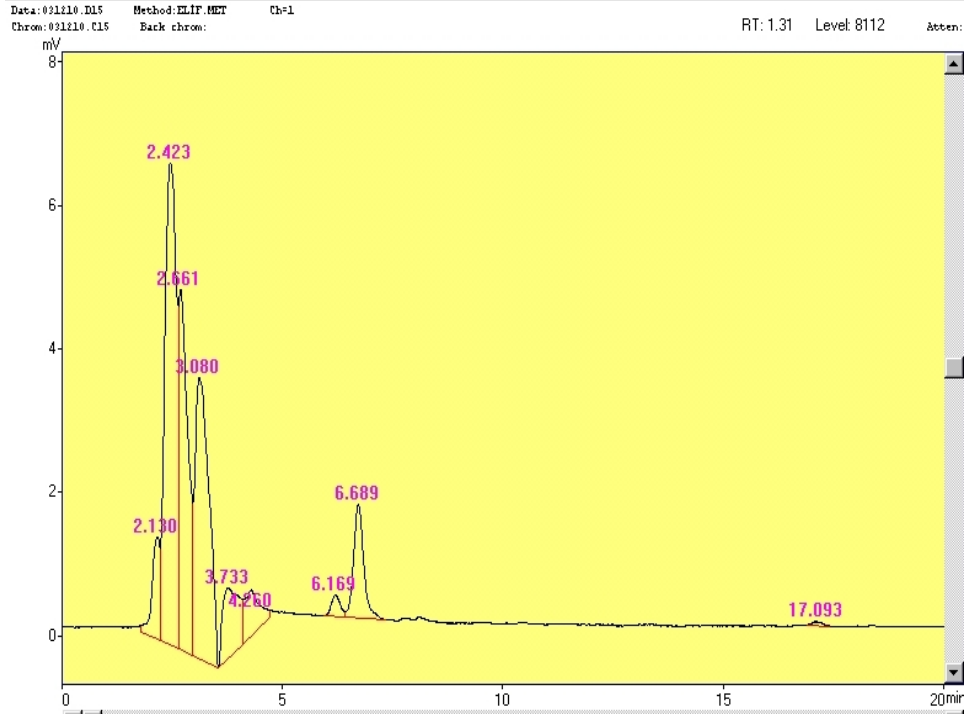
Yöntemin saptama limiti 0,018 µg/ml, kantitasyon limiti ise 0,054 µg/ml olarak belirlendi.

4.2.4. Geri Kazanım

Yapılan tekrarlı analizlerde yöntemin % 81 - 98 arasında değişen geri kazanım yüzdesi, ortalama % 88 olarak elde edildi. Şekil 4-4'de kör kromatogram ve Şekil 4-5'te 1 µg/ml tilmikosin standardı eklenmiş serum örneğinden elde edilmiş kromatogram verilmiştir.



Şekil 4-4: Kör Kromatogram



Şekil 4-5: 1 µg/ml tilmikosin standardı eklenmiş serum örneğinden elde edilen kromatogram

4.2.5. Stabilité

İki eritme – dondurma işlemi sonrasında tilmikosinin geri kazanım yüzdesinin değişmediği saptandı.

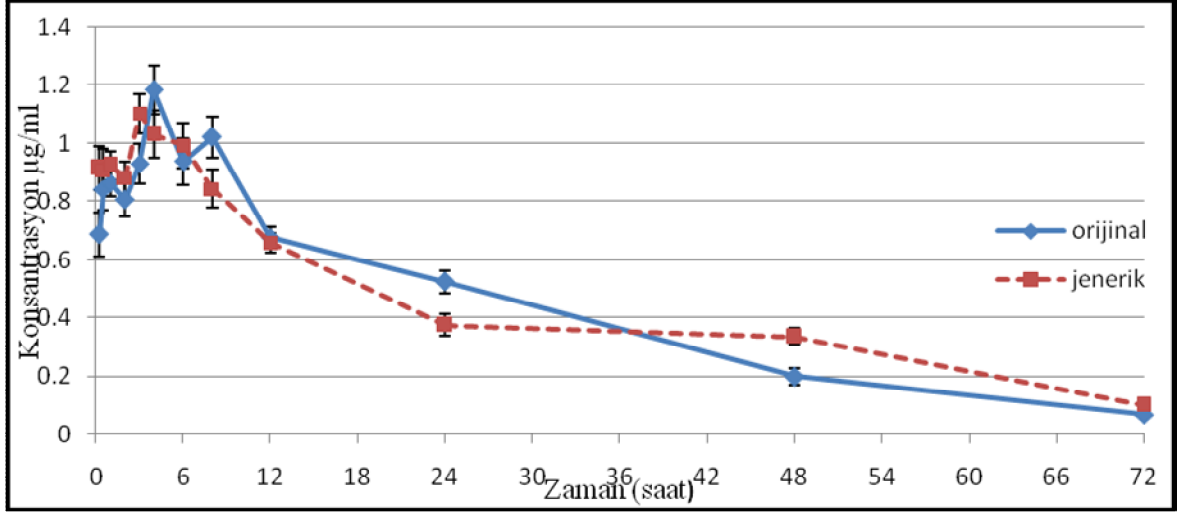
4.3. İlaç Uygulaması

Orijinal ve jenerik ilacın uygulandığı her iki grupta da enjeksiyon yerinde hiperemi ve ödem gözlemlendi. Bu etki ilaç uygulamasını takip eden 2. saatten itibaren başlamış ve zaman içinde her iki ilacın uygulandığı tüm hayvanlarda oluşmuştur. Prospektüste de belirttiği üzere geçici olarak görülen bu yan etki 36. saatten itibaren ortadan kalkmıştır.

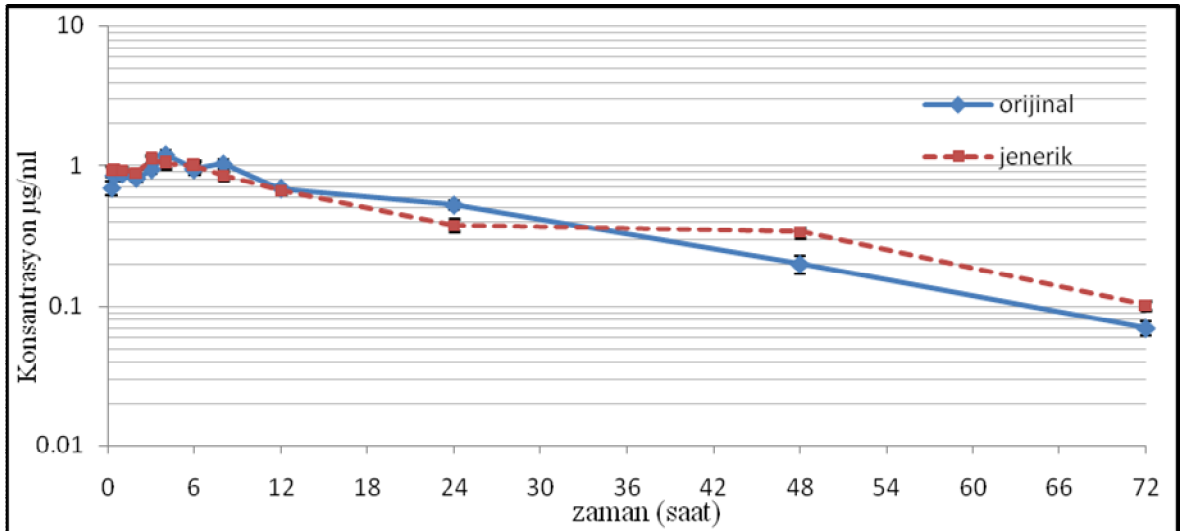
4.4. Farmakokinetik Veriler

İlaçların uygulanmasını takiben alınan serum numunelerinde yapılan HPLC analizi sonuçlarına göre doğal olarak 0. saatte ve 96.saatte tilmikosin saptanamadı. Dolayısıyla 15. dakika ile 72. saatler arasında alınan numunelerde tilmikosin saptandı.

Orijinal ve jenerik preparatlara ait deri altı tek doz uygulama sonrasında elde edilen serum konsantrasyon - zaman eğrisi Şekil 4-6'da, yarı-logaritmik serum konsantrasyon - zaman eğrisi ise Şekil 4-7'de gösterilmiştir.



Şekil 4-6: Tilmikosinin tek doz deri altı uygulamasını takiben orijinal ve jenerik preparatlardan elde edilen ortalama ± (standart hata) serum konsantrasyon-zaman eğrisi (n= 20)



Şekil 4-7: Tilmikosinin tek doz deri altı uygulamasını takiben orijinal ve jenerik preparatlardan elde edilen yarı-logaritmik ortalama ± (standart hata) serum konsantrasyon- zaman eğrisi (n= 20)

Kıvırcık ırkı koyunlarda tilmikosin fosfat içeren orijinal ve jenerik preparatlara ait farmakokinetik parametrelerin belirlenmesinde non-kompartmantal model analizi uygulanarak, WinNonLin (WinNonLin® Professional Version 4.1, Pharsight Corporation, Scientific Consulting Inc. North Carolina, USA) programı kullanıldı. Elde edilen veriler Tablo 4-2 'de belirtilmiştir.

Tablo 4-2: Deri altı yolla uygulanan ve tilmikosin fosfat içeren original ve jenerik preparatlara ait farmakokinetik parametreler

Parametre	Orijinal İlaç (Ortalama ± standart hata)	Logaritmik Dönüşüm Sonrası	Jenerik ilaç (Ortalama ± standart hata)	Logaritmik Dönüşüm Sonrası	P değeri
C_{max} ($\mu\text{g/ml}$)	1,29 ± 0,067	0,255	1,36 ± 0,066	0,307	0,413 ^{ÖD}
t_{max} (saat)	8	-	6	-	0,117 ^{ÖD}
$t_{1/2}$ (saat)(HO)	16,1 ± 5,803	2,779	23,51 ± 10,987	3,157	0,003 ^{**}
EAA_{0-72} (saat $\mu\text{g/ml}$)	29,01 ± 1,771	3,368	29,98 ± 1,258	3,401	0,725 ^{ÖD}
$EAA_{0-\infty}$ (saat $\mu\text{g/ml}$)	30,95 ± 1,820	3,432	34,17 ± 1,411	3,531	0,278 ^{ÖD}
MRT (saat)(HO)	19,59 ± 2,825	2,975	22,5 ± 4,282	3,113	0,021 [*]

*P < 0,05

** P < 0,01

*** P < 0,001

ÖD (NS –önemli değil) P > 0,05

Biyoeşdeğerlik değerlendirmesinde dikkate alınacak parametrelerden t_{max} dışındaki tüm parametrelerin logaritmik dönüşümü yapıldıktan sonra her iki ürünün parametrelerinin, WinNonLin (WinNonLin® Professional Version 4.1, Pharsight Corporation, Scientific Consulting Inc. North Carolina, USA) programı yardımı ile % 90 güven aralığına göre biyoeşdeğerlik için kabul edilebilir sınırlar içinde olup olmadığı belirlendi. Program yardımı ile elde edilen EAA ve C_{max} değerlerinin alt, üst sınırlarının ve ortalamalarının karşılaştırılmasında üç değer de kabul edilebilir sınırlar içerisinde (% 80-125) olduğu görüldü. (Tablo 4-3)

Tablo 4-3: Jenerik ilacın Orijinal ilaca göre biyoeşdeğerliği

Parametre	Ortalama	Üst Sınır	Alt Sınır	Kabul edilebilir Limit
EAA	105,66	121,02	92,25	% 80-125
C_{max}	106,55	120,05	94,57	% 80-125

5. TARTIŞMA

Çalışmada seçilen preparatların etken maddesi olan tilmikosin fosfat, koyun ve sığırların solunum sistemi enfeksiyonlarında tedavi seçeneği olarak hekimlerin sıklıkla tercih ettiği bir antibiyotiktir. Türkiye’de enjeksiyonluk tilmikosin fosfat içeren 19 adet yerli üretim jenerik preparat bulunmaktadır. Çalışmaya başlamadan önce saha hekimleri ile yapılan görüşmeler sonrasında piyasada bulunan 19 adet jenerik preparat içinden, sahada en sık kullanılanı seçilmiş ve bu preparatın orijinaline biyoeşdeğer olup olmadığı araştırılmıştır.

Biyoeşdeğerlik çalışmalarında etken maddelerin vücut sıvılarından miktar ölçümlerinde güvenilirliği ve hassasiyeti açısından en sık tercih edilen yöntemlerin başında kromatografi gelir. Çalışmamızda tilmikosinin serumda saptanması için Chan ve arkadaşlarının uyguladığı HPLC (Yüksek Basıncılı Likit Kromatografi) yöntemi (16) kullanılmıştır. Bu yöntemle tilmikosin için elde edilen saptama limitinin (0,018 µg/ml) Chan ve ark. (1994)’nın bulduğu değerle benzer olduğu (0,01 µg/ml) gözlenmiştir.

Tilmikosinin serumdan ekstraksiyonu Modric ve ark (68), Moran ve ark. (69), Avcı (10) ve Keleş ve Ark. (53) tarafından kullanılan ekstraksiyon metodu modifiye edilerek uygulanmıştır. Belirtilen yöntemin serumda tilmikosini saptamak için kullanılabilir olduğu ortaya konulmuştur. Metodun elde edilen geri kazanım oranı ortalama % 88’dir. Bu oran diğer araştırmacıların verilerine benzerlik göstermektedir. Ayrıca bu veri, biyoeşdeğerlik değerlendirmesinde tercih edilecek analitik yöntemin yeterli şartları sağladığını da göstermektedir.

Tilmikosinin farmakokinetiğinin incelendiği araştırmalarda, uygulama yolu, tür ve diğer bazı faktörlere göre kompartmanlı (10, 53, 68, 71, 83, 92) ve/veya kompartmansız (1, 20, 41, 42, 67) matematik modeller kullanılmıştır. Bu çalışmada hesaplamalar, EMEA’nın 16 Temmuz 2010 tarihli Veteriner Medikal Ürünler için Biyoeşdeğerlik Çalışmalarının Yürütülmesi Rehberi’ne göre farmakokinetik parametrelerin belirlenmesinde non-kompartman model analizi ile yapılmıştır (27).

Tilmikosin ile koyunlarda yapılan çalışmalardan elde edilen farmakokinetik veriler Tablo 5-1’de verilmiştir.

Tablo 5-1: Koyunlarda 10 mg/kg dozda deri altı yolla tilmikosin uygulaması ile elde edilen farmakokinetik veriler

EAA(saat $\mu\text{g/ml}$)	t_{max} (saat)	C_{max} ($\mu\text{g/ml}$)	$t_{1/2}$ (saat)	MRT (saat)	Kaynak
33	8	1,32	12,11	25,36	71
19	3,90 (ort)	0,822	33		68
25,82		1,42	22,89		89
18,46		2,16			113

Çalışmamızda tilmikosinin deri altı yolla uygulanmasını takiben orijinal ilaç ve jenerik ilaç için elde edilen ortalama EAA değerleri sırasıyla 30,95 ve 34,17 saat $\mu\text{g/ml}$ olarak hesaplanmıştır. Tilmikosinin aynı dozda deri altı uygulama sonrasında farmakokinetiğinin araştırıldığı, melez ırklarda (68, 71, 89) ve Xiaoweihan ırkı koyunlarla (113) yapılmış çalışmalarda sırasıyla 19 saat $\mu\text{g/ml}$ (68), 33 saat $\mu\text{g/ml}$ (71), 25,82 saat $\mu\text{g/ml}$ (89) ve 18,46 saat $\mu\text{g/ml}$ (113) EAA elde edilmiştir. Veriler arasında gözlenen farklılıkların ırk ve yaş özelliklerinden ayrıca farmakokinetik hesaplamalarda kullanılan matematik model farklılıklarından kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Çalışmamızda tilmikosinin deri altı uygulamasını takiben serumda maksimum konsantrasyona ulaşma zamanı (t_{max}) konsantrasyon - zaman eğrisinden direk bakı ile elde edilmiştir. Bu değer orijinal ilaç için en düşük 0,5 - en yüksek 8 saat, jenerik ilaç için ise en düşük 0,5 – en yüksek 6 saattir. Her iki grupta da t_{max} değeri ortalamaları ise sırasıyla 4,48 ve 3,39 saat olarak bulunmuştur. t_{max} değeri koyunlarda tilmikosinin farmakokinetiğini inceleyen Modric ve ark (68) tarafından ortalama 3,9 saat ve Naccari ve ark.(71) tarafından ise 8 saat olarak bulunmuştur. Elde ettiğimiz t_{max} değeri bu veriler ile uyumluluk göstermektedir. Diğer hayvan türleri ile yapılan çalışmalarda t_{max} değeri; atda 6 saat (20), sığırdada 0,5 saat (68) ve 1 saat (10), keçide 6,39 saat (83), tavuklarda 4,66 saat (1) ve 3,99 saat (53), tayda 5,5 saat (107), domuzda 3,12 saat (92)

ve tavşanda ise 0,66 saat (42) olarak bulunmuştur. Türler arasında değişkenlik yüksek olmakla birlikte bu durum birçok faktöre (vücut yağ oranı, dehidratasyon vb.) bağlı olabilir. Örneğin enjeksiyonun yapıldığı bölgenin yağlı olması emilimi yavaşlatacağından t_{max} değerini etkileyecektir (68). Ayrıca ticari preparatların farklı taşıyıcı maddeler içerebilmesi nedeniyle dahi t_{max} değerleri bakımından farklılıklar olabilmektedir. (96).

Çalışmamızda serumda elde edilen C_{max} , konsantrasyon - zaman eğrisinden direkt bakı ile saptanmış olup orijinal ilaç için ortalama 1,29 $\mu\text{g/ml}$; jenerik ilaç için ise 1,36 $\mu\text{g/ml}$ 'dir. C_{max} değeri, Modric ve ark. tarafından 0,822 $\mu\text{g/ml}$, Naccari ve ark. tarafından 1,32 $\mu\text{g/ml}$ ve Rui ve ark. tarafından da 1,42 $\mu\text{g/ml}$ olarak bildirilmiştir. Elde ettiğimiz C_{max} değeri bildirilen verilerle uyumluluk göstermektedir. At ve taylarda C_{max} değerinin düşüklüğü (0,26 – 0,19 $\mu\text{g/ml}$) enjeksiyon bölgesinde şekillenen şiddetli ödem ve ağırlı şişliğe dolayısı ile enjeksiyon bölgesindeki ilaç reaksiyonunun tilmikosinin emilimini azaltmasına bağlanmıştır (20).

Tilmikosinin serumdaki yarılanma ömrü ($t_{1/2}$) orijinal ilaç için ortalama 16,11 saat; jenerik ilaç için ise 23,51 saat olarak bulunmuştur. Orijinal ve jenerik ilacın yarılanma ömürleri arasında gözlenen farkın taşıyıcı maddeden kaynaklanabileceği düşünülmektedir (96). İlacın yarı ömrünün uzun olması; enjeksiyon bölgesi ve dokularda birikiminin fazla, atılımının ise yavaş olması ile bağlantılıdır. Bu durum makrolid grubu antibiyotiklerin genel özelliklerindedir (14). Çalışmamızda elde ettiğimiz uzun yarı ömür değerleri, dokularda kalma süresinin uzun olduğuna yönelik literatür bilgilerini destekler niteliktedir. Bildirilen yarı ömür değerleri açısından hayvan türleri arasında belirgin bir farklılık yoktur. Tavuklarda elde edilen değerler (45 – 30,18 saat); fizyolojik ve morfolojik farklılıklara rağmen diğer hayvan türleri ile de benzerlik göstermektedir. Bu durumun ilacın büyük kısmının değişmeden atılmasından ve önemli düzeylerde metabolize edilmemesinden kaynaklanabileceği belirtilmiştir (68).

Tilmikosinin vücutta ortalama kalış süresi (MRT), orijinal ilaç için ortalama 19,59 saat, jenerik ilaç için ise 22,50 saat olarak bulunmuştur. Jenerik ilacın MRT değerinin orijinal ilacından daha uzun olması yarılanma ömrünün daha uzun olmasına bağlıdır. Jenerik ilaç için yarılanma ömrü ve ortalama kalış süresi parametrelerinin orijinal ilaçtan daha uzun olması, jenerik ilacın arınma zamanının da orijinal ilaca göre daha uzun olacağı anlamına gelmektedir (96).

Literatürlerde ve prospektüs bilgilerinde tilmikosin uygulanan hayvanlarda kardiyopulmoner yan etkiler ile enjeksiyon yerinde geçici şişlik ve ödem olabileceği bildirilmiştir (100, 103). Çalışmamızda ilaç uygulaması sonrasında herhangi bir kardiyopulmoner bulgu (taşikardi, hızlı solunum vb.) gözlenmemiştir. Uygulama sonrasında enjeksiyon yerinde oluşan şişlik ve ödem ise uygulamayı takiben 36. saat itibari ile normale dönmüştür. Yapılan bazı çalışmalarda enjeksiyon bölgesinde oluşan şiddetli ödem ve ağrılı şişliğin neden olduğu reaksiyonla dokulardan düzensiz emilime neden olabileceği ve buna bağlı olarak C_{max} değerinin düşük t_{max} değerinin ise uzun olabileceği ileri sürülmüştür (20, 107). Çalışmamızda elde edilen C_{max} ve t_{max} değerleri, gözlenen şişlik ve ödemin bu parametreler üzerinde böyle bir etkinin oluşmadığını göstermektedir.

Başarılı bir antimikrobiyal tedavi; etkenin etyolojik olarak doğru tanısına ,uygun antimikrobiyal ajanın seçimine ve uygun doz rejiminin uygulanmasına bağlıdır. Tam bir tedavinin garanti edilmesi yanında dirençli patojenlerin yayılımını ve seleksiyonunun da önlenmesi için hekimlerin antibiyotiklerin farmakokinetik ve farmakodinamik özelliklerini yani hedef hayvan türü ve patojen için uygun antibiyotik seçimini ile ilacın klinik etkinliği ve doz arasındaki ilişkiyi göz önünde bulundurması gerekir (5, 22, 62, 111).

Tilmikosinin akciğer konsantrasyonlarının kan konsantrasyonlarına oranla yüksek olduğu bilinmektedir ve bu durum tedavinin başarısını kan konsantrasyonu - zaman eğrisine göre öngörmeyi zorlaştırmaktadır. Çalışmamızda elde ettiğimiz kan konsantrasyonlarının EUCAST'daki (34) verilere göre *P. multocida* ve *P. haemolytica* için 24 saat süre ile MİK değeri üzerinde olduğu görülmektedir. Yapılan in vitro çalışmalar sub inhibitör ve postantibiyotik etki ile ilacın etkinliğinin sürdüğünü (25) ve akciğerlerdeki konsantrasyonun *P.haemolytica* için 72 saat boyunca MİK değerinin üzerinde seyrettiğini ortaya koymuştur (43).

EMA'nın 2010 yılındaki Veteriner İlaçlarda Biyoeşdeğerlik Değerlendirmesi Rehberine göre; EAA ve C_{max} değerleri dikkate alınan birincil parametrelerdir (27, 63, 82). Biyoeşdeğerlik değerlendirilmelerinde genel bir kural olarak EAA ve C_{max} değerlerinin % 90 güven aralığında ve % 80 - 125 sınırlarında olması gerekmektedir (27, 28, 35, 51, 85, 102). t_{max} değeri ise örnekleme zamanına göre değişkenlik

gösterdiğinden bu sınır % 70 - 143 arasında kabul edilmektedir ve biyoeşdeğerliğin değerlendirilmesinde ikincil parametredir (28, 35).

Bu çalışmada biyoeşdeğerlik kararı verilirken EAA_{0-72} ve C_{max} değerleri temel alınmış ve istatistiksel olarak analiz yapabilmek için veriler logaritmik dönüşüm sonrası değerlendirilmiştir. Çalışmamızda elde ettiğimiz verilere göre jenerik ilacın EAA değerinin alt sınırının % 92,25, üst sınırının % 121,02 ve ortalamasının % 105,6 olduğu; C_{max} değerinin ise alt sınırının % 94,57, üst sınırının % 120,05 ve ortalamasının % 106,55 olduğu görülmüştür. Bu değerler kabul edilebilir sınırlar içerisinde bulunmuştur. Sonuç olarak EAA_{0-72} ve C_{max} değerleri temel alınarak yapılan karşılaştırma, jenerik ilacın biyoeşdeğer olduğunu göstermektedir.

Ülkemizde bulunan jenerik preparatlarla yapılmış sınırlı sayıda biyoeşdeğerlik çalışması bulunmaktadır. Araştırmamız bu çalışmalardan biri olup diğer çalışmalarda da (7, 112) incelenen ilaçların biyoeşdeğer olduğu görülmüştür.

Ülkemizde yürürlükte olan veteriner tıbbi ürünlerle ilgili yönetmeliğe göre jenerik ilacın, aktif maddeler açısından orijinal ilaçla aynı kalitatif ve kantitatif kompozisyona sahip, aynı farmasötik formda ve biyoeşdeğerliği uygun biyoyararlanım testleri ile kanıtlanmış olması gerekmektedir (84). Ancak genel bilgiler kısmının 2.2.2'ye c bendinde de belirtildiği üzere; biyoeşdeğerlik rehberlerine göre parenteral yolla uygulanan çözeltilerde farmasötik eşdeğerlilik söz konusu ise biyoeşdeğerlik çalışmalarının yapılması gerekli görülmez denilmektedir. (31). Bununla beraber parenteral yolla kullanılan her jenerik ilacın orijinal ilacın biyoeşdeğer olmadığı ve arınma zamanının belirlenmesinde önemli olan parametrelerin [yarı ömür ($t_{1/2}$), dağılım hacmi (V_d) ve klirens (Cl)] jenerik ilaçlarda farklı olabileceği Sumano ve ark. tarafından gösterilmiştir (96)

Ülkemizde 33 adet preparatı bulunan enjeksiyonluk enrofloksasinin, Meksikada kullanılan 9 adet jeneriğinin Baytril ® ile biyoeşdeğerliği Sumano ve ark. tarafından değerlendirilmiş ve sadece bir tanesinin C_{max} değeri orijinaline yakın bulunurken EAA değerleri açısından bakıldığında ise hiç biri orijinal ilaca biyoeşdeğer bulunmamıştır. Bu çalışma parenteral yolla uygulanan jenerik ilaçların aktif madde kalitesi ile taşıyıcı madde niteliği ve sayısındaki farklılık nedeniyle her zaman biyoeşdeğer olamayacağını kanıttır (96).

Ayrıca Sumano ve ark. tarafından yapılan çalışmada 9 jenerik enrofloksasin preparatının 5'inin yarılanma ömrü ve dağılım hacmi, orijinal ilaca göre oldukça farklı bulunmuştur (96). Jenerik ilaçların kesim öncesi bekletme sürelerinin değişebilmesi nedeniyle orijinal ilaca göre hayvansal ürünlerde daha uzun süre atılması nedeniyle halk sağlığı açısından da sorunlar yaşanmasına neden olabilecektir (96).

Türkiye de ruhsatlı 20 adet enjeksiyonluk tilmikosin preparatı vardır. Çalışmamızda bunlardan bir tanesi incelenmiş ve biyoeşdeğer bulunmuştur. Ancak bu sonuç incelediğimiz preparat açısından geçerli olup geri kalan 18 preparatın kontrolünün yapılması hem hayvan sağlığı hem de halk sağlığı açısından bir gerekliliktir.

Hem kaliteli hayvansal üretimin garanti edilebilmesi hem de halk sağlığı açısından, yeni çıkarılan veteriner tıbbi ürünler hakkındaki yönetmeliği tamamlayıcı olarak veteriner tıbbi ürünlerde biyoeşdeğerliğe ilgili detaylı düzenlemelerin de yapılmasının gerekliliği ve önemi açıktır. Bu düzenleme ile parenteral kullanılan ilaçlar için de her jenerik ilacın kesim öncesi bekletme ve tüketilmeme sürelerinin bireysel olarak ortaya konulabilmesi mümkün olacaktır.

Bu sayede hem halk sağlığı açısından olası sorunların önüne geçilebilecek, hem veteriner hekim(ler) ilaçları güvenle kullanabilecek hem de üretilen ilaçlar uluslar arası kabul görmüş kriterleri karşılayabileceğinden ülkemizin ilaç piyasasında rekabet gücü artacaktır.

KAYNAKLAR

1. Abu-Basha E.A., Idkaidek N.M., Al-Shunnaq A.F. Pharmacokinetics of Tilmicosin (Provital Powder and Pulmotil Liquid AC) Oral Formulations in Chickens. *Veterinary Research Communications*. 2007; **31**: 477-485.
2. Ağabeyoğlu İ. Biyofarmasötik. İçinde Acartürk F., Ağabeyoğlu İ., Çelebi N., Değim T., Değim Z., Doğanay T., Tokka S., Tırnaksız F. *Modern Farmasötik Teknoloji*. 2nd ed. Ankara, Mattek Matbaacılık , 2009: 407-472
3. Ak S., Keleş O., Bakirel T. Tilmikosin ve Sefkuinomun Tek başına ve birlikte Kullanımının Bazı kanatlı patojenlerine karşı in vitro aktivitesi. *Turk J Vet Anim Sci.*, 2001; **25**: 577-580.
4. Akova M , Kayaalp O. Makrolid, Linkozamid ve Streptogramin Antibiyotikler ve Linezolid. İçinde. Kayaalp O. editor. *Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji* .Ankara, Hacettepe-TAŞ, 2002. Pp 249-258.
5. Aktaş F. Tedavisi güç infeksiyonlarda Antibiyotiklerin Farmakokinetik /Farmakodinamik Özelliklerinin Önemi:Endokardit. *ANKEM Derg.* 2011; **25**(Ek 2): 201-206.
6. Al-Haddawi M.H., Jasni S , Zamri-Saad M., Mutalib A.R., Son R. A.R., Sheikh-Omar. Ultrastructural Observation of Nasal and Pulmonary Intracellular *Pasteurella multocida* A:3 in Rabbits. *Veterinary Research Communications*. 2000; **24**: 153-167.
7. Altıntaş L. Ağızdan Kullanılan Bazı Sülfonamid Preparatlarının Broilerde Biyoeşdeğerliliği..Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Farmakoloji ve Toksikoloji AbD. Doktora Tezi. Ankara, 2006.
8. Altunok V., Yazar E., Elmas M., Traş B., Baş A.L., Cöl R. Investigation of Haematological and Biochemical Side Effects of Tilmicosin in Healthy New Zealand Rabbits. *J.Vet. Med. B.* 2002;**49**: 68-70.
9. Atef M, Abo el-Sooud K, Nahed E, Tawfik M. Elimination of tilmicosin in lactating ewes. *Dtsch Tierarztl Wochenschr.*1999;**106**(7): 291-294.
11. Avcı T. Sığırlarda Parenteral yolla uygulanan bazı makrolid grubu antibiyotiklerin sütteki seviyelerinin Belirlenmesi. Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Farmakoloji ve Toksikoloji abD. Doktora Tezi. Konya 2010.

12. Bayındır Y. 1986'dan 2010'a Makrolidler. *ANKEM Derg.* 2010;**24**(Ek 2): 19-26
13. Brunton L.L., editor. *Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*. 12nd ed. California ; 2010.
14. Buehler G. *History of Bioequivalence for Critical Dose Drugs*. [web page on the Internet] 23.04.2010. Erişim Tarihi: 22.08.2011, <http://www.fda.gov/downloads/AdvisoryCommittees/CommitteesMeetingMaterials/Drugs/AdvisoryCommitteeForPharmaceuticalScienceandClinicalPharmacology/UCM209319.pdf>
15. Burrows G.E., Barto P.B., Martin B. Antibiotic disposition in experimental pneumonic pasteurellosis: gentamycin and tylosin. *Am. J Vet Res.* 1986;**50**:193-199.
16. Canbolat O. *İlaç ve İlaç Politikalarına Bakış*, Ankara: Sena Ltd.Şti.; 2002.
17. Chan W., Gerhart G.C., Salisbury C. D.C. Determination of Tylosin and tilmicosin Residues in Animal Tissues by Reversed-Phase Liquid Chromatography. *Journal of AOAC International*. 1994;**77** (2): 331-333.
18. Chen M., Shah V., Patnaik R., Adams W., Hussain A., Conner D. ve ark. Bioavailability and Bioequivalence: An FDA Regulatory Overview. *Pharmaceutical Research*. 2001;**18** (12): 1645-1650.
19. Cherson R., Banakar U. Bioavailability, Bioequivalence and Drug Selection. İçinde. Makoid M., Vuchetich P., Banakar U. editor. *Basic Pharmacokinetics*. Omaha .NE., Creighton University Press. 1999; P: 1-117.
20. Clark C., Dowling P.M., Ross S., Woodbury M., Boison J.O. Pharmacokinetics of tilmicosin in equine tissues and plasma. *J.vet. Pharmacol. Therap.*2007; **31**:66-70
21. Clark C.R. Investigation of the Potential Use, Pharmacokinetics and safety of Tilmicosin in Horse. University of Saskatchewan Doctoral Thesis.. Saskatoon. 2008.
22. *Clinical Pharmacokinetics*. [web page on the Internet] Erişim Tarihi: 21.08.2011, <http://www.philadelphia.edu.jo/academics/ybatineh/uploads/ph2.2.pdf>
23. Craig W.A. Pharmacodynamics of Antimicrobials: General Concepts and Applications. İçinde Nightingale C.H., Murakawa T., Ambrose PG. editor. *Antimicrobial Pharmacodynamics in Theory and Clinical Practice* Marcel Deccer, Inc. 2002.pp: 1-17

24. Danon A.. An outbreak of digoxin intoxication. *Clin. Pharmacol. Ther.*, 1977; **21**:643
25. Debono M., Willard K.E., Kirst H.A., Wind J.A., Crouse G.D., Tao E.V.,ve ark..Synthesis and antimicrobial evaluation of 20-deoxo-20-(3,5-dimethylpiperidin-1-YL)desmycosin (Tilmicosin,EL-870) and related cyclic amino derivatives. *The Journal of Antibiotics*. 1989; **Vol:XLII** No: 8: 1253-1267.
26. Diarra M.S., Maulouin F., Jacques M. Postantibiotic and physiological effects of tilmicosin, tylosin and apramycin at subminimal and suprainhibitory concentrations on some swine and bovine respiratory tract pathogens. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 1999;**12**:229-237.
27. Du Y., Yoo D., Paradis M., Scherba G. Antiviral Activity of Tilmicosin for Type 1 and Type 2 Porcine Reproductive And Respiratory Syndrome Virus In Cultured Porcine Alveolar Macrophages. *J Antivir Antiretrovir*. 2011; **3**(3): 28-33.
28. EMEA . *Guideline on the conduct of bioequivalence studies for veterinary medicinal products. Draft*. Londra. Committee for Medicinal Products for Veterinary Use (CVMP) EMEA/CVMP/016/00-Rev.2-CONSULTATION (internette) 16.07.2010. Erişim Tarihi: 09.08.2011, http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/10/WC500004305.pdf
29. EMEA. *Note for Guidance on the investigation of bioavailability and Bioequivalence*. Londra Committee for proprietary medicinal product (CPMP). CPMP/EWP/QWP/1401/98. (internette) 26.06.2001. Erişim Tarihi: 16.04.2010, <http://home.att.ne.jp/red/akihiro/emea/140198en.pdf>
30. EMEA. *Tilmicosin (Extension to bovine milk)* Londra, UK: Committee For Veterinary Products. EMEA /MRL/619/99-FINAL (internette) .. Haziran 1999. Erişim Tarihi : 19.08.2011, http://www.emea.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Maximum_Residue_Limits_-_Report/2009/11/WC500015588.pdf
31. EMEA. *Tilmicosin (Extension to milk)*. Londra, UK : Committee For Veterinary Products.EMEA /MRL/736/00-FINAL (internette) . Nisan 2000 .Erişim Tarihi: 19.12.2011

- http://www.emea.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Maximum_Residue_Limits_-_Report/2009/11/WC500015591.pdf
32. EMEA. *Guidelines for the conduct of bioequivalence studies for veterinary medicinal products*. Londra, UK: EMEA/CVMP/016/00-corr-FINAL. (internette) ,2001 Erişim Tarihi : 20.12.2010
http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/10/WC500004304.pdf
33. EMEA. *List of the names pharmaceutical form, strength of the medicinal products, routes of administration, animal species and marketing authorization holders in the concerned member states*.(internette) EMEA/CVMP/271653/2005-EN 9.11.2005 Erişim Tarihi: 20.08.2011,
http://ec.europa.eu/health/documents/communityregister/2006/2006062311218/annx_11218_en.pdf
34. Eraksoy H. Makrolidler:Eski ve Yeni Üyeler. *ANKEM Derg.* 1991; 5(3): 284 - 296
35. EUCAST. *Antimicrobial wild type distributions of microorganisms* İnternette. Erişim Tarihi: 16.11.2011.
<http://217.70.33.99/Eucast2/SearchController/regShowAll.jsp?Title=Tilmicosin>
36. FAO. *Guidance for Industry Bioequivalence Guidance*. U.S.A.: Center for veterinary Medicine (CVM) (internette) 8.11.2006, Erişim Tarihi: 08.09.2010,
<http://www.fda.gov/downloads/AnimalVeterinary/GuidanceComplianceEnforcement/GuidanceforIndustry/ucm052363.pdf>
37. FAO. *Tilmicosin*. Food & Drug Administration (internette) Erişim 08.09.2010,
<http://ftp.fao.org/ag/agn/jecfa/vetdrug/6-2009-tilmicosin.pdf>
38. FDA. *Bioavailability and Bioequivalence Studies for Orally Administered Drug Products — General Considerations*. Rockville: Food and Drug Administration Center for Drug Evaluation and Research (CDER) (internette) Mart 2003. Erişim Tarihi: 21.08.2011,
<http://www.fda.gov/downloads/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/ucm070124.pdf>
39. FDA. *Tulathromycin solution for parenteral injection for treatment of bovine and swine respiratory disease*. Microbiological Effects on Bacteria of Human Health Concern. (internette) 15.09.2004. Erişim tarihi : 14.11.2011,

<http://www.fda.gov/downloads/AdvisoryCommittees/CommitteesMeetingMaterials/VeterinaryMedicineAdvisoryCommittee/UCM127196.pdf>

40. FDA. *Micotil 300* . *Freedom of information summary Supplemental New Animal Drug Application NADA 140-929* (internette) 2 Aralık 2005. Erişim Tarihi : 19.12.2011, <http://www.fda.gov/downloads/AnimalVeterinary/Products/ApprovedAnimalDrugProducts/FOIADrugSummaries/ucm115928.pdf>
41. Frank G.H., Briggs R.E., Loan R.W., Purdy C.W., Zehr E.S. Effects of tilmicosin treatment on *Pasteurella haemolytica* organisms in nasal secretion specimens of calves with respiratory tract disease. *Am J Vet Res.* 2000; **61**: 525-529.
42. Fricke J.A., Clark C.R., Boison J.O., Chirino-Trejo M., Inglis T.E.S., Dowling P.M. Pharmacokinetics and tissue depletion of tilmicosin in turkeys. *J.vet Pharmacol Therap.* 2008;**31**:591-594.
43. Gallina G., Lucatello L., Drigo I., Cocchi M., Scandurra S., Agnoletti F. ve ark. Kinetics and intrapulmonary disposition of Tilmicosin after single and repeated oral bolus administrations to rabbits. *Vet Res Commun.* 2010; **34** (suppl 1): 69-72.
44. Giguère S. Macrolides, Azalides, and Ketolides. İçinde. Prescott J.F. editor. *Antimicrobial Therapy in veterinary medicine.* Blackwell Publishing. 2006. pp:191-206
45. Güreli H. Sığırlarda solunum sistemi hastalıklarının tedavisinde kullanılan antibiyotikler. *Vet Hekim Der Derg,* 2009; **80**(3): 29-33.
46. Helton-Groce S.L., Thomson T.D., Readnour R.S. A study of tilmicosin residues in milk following subcutaneous administration to lactating dairy cows. *Can Vet J,* 1993; **34**: 619-621.
47. Kahn C..M. editor. *The Merck Veterinary Manual.* 9th ed. Whitehouse Station, NJ., Merck & CO., 2005. pp:2091-2092.
48. Kızılcık İ. *Biyoyararlanım ile ilgili temel kavramlar.* [web page on the Internet] Erişim Tarihi: 11.08.2011. V.Eczacılık Kongresi, İstanbul Eczacı Odası Yayınları 1993. http://www.e-kutuphane.teb.org.tr/pdf/eczaciodasiyayinlari/5_ecza_kngresi/11.pdf

49. Kaya S. Farmakokinetik içinde Kaya S.,Pirinççi İ., Bilgili A. editör, *Veteriner Hekimliğinde Farmakoloji*. 3rd ed. Ankara Medisan Yayınevi 2002 pp: 32-36.
50. Kaya S. Makrolidler içinde Kaya S, Pirinççi İ., Bilgili A. editör, *Veteriner Hekimliğinde Farmakoloji*. 3rd ed. Ankara Medisan Yayınevi 2002 pp: 335-343.
51. Kayaalp S. O. Farmakolojiye Giriş. İçinde. Kayaalp O. editor. *Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji* 10th ed..Ankara, Hacettepe-TAŞ, 2002. Pp: 1-7.
52. Kayaalp S.O. *Klinik Farmakolojinin Esasları ve Temel Düzenlemeler*. 2nd ed. Ankara, Hacettepe-TAŞ., 2001: 305-347.
53. Kayaalp S.O. .Müstahzarlar Arasındaki Biyolojik Eşdeğerlik (Biyoeivalans) İçinde. Kayaalp S.O. editor. *Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakololij* ,Ankara, Güneş Kitapevi-Ltd., 1994; 502-512.
54. Keleş O., Bakırel T., Şener S., Baktır G., Dağoğlu G., Özkan O. Tavuklarda Tilmikosinin Farmakokinetiği ve Dokulardaki Düzeyleri . *Turk J Vet Anim Sci*. 2001; **25**: 629-634.
55. Kirst H.A. Macrolide antibiotics in food-animal health. *Expert Opinion on Investigational Drugs*. 1997; **6**(2):103-117.
56. Lakritz J,, Tyler JW,, Marsh AE,, Romesburg-Cockrell M,, Smith K,, Holle JM., Tilmicosin reduces lipopolysaccharide-stimulated bovine alveolar macrophage prostaglandin E(2) production via a mechanism involving phospholipases. *Vet Ther*. 2002; **3**(1): 7-21.
57. Leblebicioğlu H. Telitromisin. *ANKEM Derg*.2004; **18** (Ek2):170-173.
58. Lees P., Concordet D., Aliabadi F.S., Tountain P. Drug Selection Optimization of Dosage Schedules To Minimize Antimicrobial Resistance . İçinde: Aarestrup F.M. editor. *Antimicrobial Resistance in Bacteria of Animal Origin*. USA, ASM Press, 2006: 49-73.
59. *List of the names pharmaceutical form, strength of the veterinary medicinal products, animal species, routes of administration, marketing authorization holders in the member states*. [web page on the Internet] Erişim Tarihi: 20.08.2011,
http://ec.europa.eu/health/documents/communityregister/2009/2009101562128/anx_62128_en.pdf

60. *List of the names pharmaceutical form, strength of the veterinary medicinal products, animal species, routes of administration, marketing authorization holders in the member states.* [web page on the Internet] Erişim Tarihi: 20.08.2011,
http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Referrals_document/Pulmotil_Premix_34/WC500036655.pdf
61. Lombardi K.R., Portillo T., Hassfurther R., Hunter R.P. Pharmacokinetics of Tilmicosin in beef cattle following intravenous and subcutaneous administration. *J.Vet. Pharmacol Therap.* 2011;**34** (6): 583-587.
62. Mandel G.L. Interaction of intraleukocytic bacteria and antibiotics. *J.Clin. Invest.* 1973; **52**: 1673-1679.
63. Martinez M., Tountain P., Walker R. The Pharmacokinetic-Pharmacodynamic (PK/PD) Relationship of Antimicrobial Agents. İçinde. Prescott J.F. editor. *Antimicrobial Therapy in veterinary medicine.* Blackwell Publishing,. 2006. pp:81-107.
64. Martinez M.N., Hunter R.P. Current challenges facing the determination of product bioequivalence in veterinary medicine. *J.vet Pharmacol Therap.* 2010; **33**: 418-433.
65. Martinez MN, Pedersoli WM, Ravis WR, Jackson JD and Cullison R. Feasibility of interspecies extrapolation in determining the bioequivalence of animal products intended for intramuscular administration. *J Vet Pharmacol Ther.* 2001; **24**:125–135.
66. McNeil F.D. *Tilmicosin.* Food & Drug Administration (internette) Erişim Tarihi: 10.04.2008, <http://www.fda.org/oc/oc/w4601e/w4601e0e.htm> .
67. Midha K.K., McKay G. Bioequivalence; Its History, Practice and Future . *The AAPS Journal.* 2009; **Vol II**(4): 664-670.
68. Modric S., Webb A.I., Davidson M. Effect of Respiratory Tract Disease on Pharmacokinetics of Tilmicosin in Rats. *Laboratory Animal Science.* 1999; **49**(3): 248-253.
69. Modric, S., Webb, A. I., Derendorf, H. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of tilmicosin in sheep and cattle. *J.vet.Pharmacol. Therap.,* 1998; **21**: 444-452

70. Moran J.W., Turner J.M., Coleman m.R. Determination of tilmicosin in Bovine and Porcine Sera by Liquid Chromatography. *Journal of AOAC International*. 1997; **80** (6): 1183-1189.
71. Morck D.W., Merrill J.K., Gard M.S., Olson ME, Nation P.N. Treatment of experimentally induced pneumonic pasteurellosis of young calves with tilmicosin. *Can J Vet Res*. 1997; **61**: 187-192.
72. Naccari F., Giofre F., Pellegrino M., Calo M., Licata P., Carli S. Effectiveness and kinetic behavior of tilmicosin in the treatment of respiratory infections in sheep. *The veterinary Record* , 2001; **148**: 773-776.
73. Naccari F., Martino D., Giofre F., Passantino A., De Montis P. Therapeutic efficacy of tilmicosin in ovine mammary infections. *Small Ruminant Research*, 2003; **47**: 1-9.
74. Neely T. *Micotil can be killer*. [web page on the Internet] Erişim Tarihi: 18.08.2011,
<http://www.hpj.com/archives/2004/sep04/sep6/Micotilcanbeakiller.CFM>
75. Nerland E.M., LeBlanc J.M., Fedwick J.P., Morck D.W., Merrill J.K., Dick P. ve ark. Effects of oral administration of tilmicosin on pulmonary inflammation in piglets experimentally infected with *Actinobacillus pleuropneumonia*. *Am. J. Vet Res*. 2005; **66**(1): 100-107.
76. Nightingale C.H, Mattoes H.M. Macrolide, Azalide, and Ketolide Pharmacodynamics. İçinde Nightingale C.H., Murakawa T., Ambrose PG. editor. *Antimicrobial Pharmacodynamics in Theory and Clinical Practice*. Marcel Deccer, Inc. 2002. pp: 205-220.
77. Norcia L.J., Silvia A.M., Hayashi S.F.. Studies on time-kill kinetics of different classes of antibiotics against veterinary pathogenic bacteria including *Pasteurella*, *Actinobacillus* and *Escherichia coli*. [*The Journal of Antibiotics*](#). 1999; 52(1): 52-60.
78. Oktay Ş., Kayaalp S.O. İlaç Uygulama Yerleri. İçinde. Kayaalp O. editor. *Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji* .Ankara, Hacettepe-TAŞ, 2002. Pp: 18-19.
79. Palermo-Neto J., Righi D.A. Bioequivalence studies: Relevance for veterinary medicine. *Braz.J. vet. Res. Anim. Sci*. 2008;**45**: 5-19.

80. Papich M. *Saunders Handbook of Veterinary Drugs Small and Large Animal*. 3rd ed. U.S.A. Saunders. 2010.
81. Papich M.G., Riviere J.E. Chloramphenicol İçinde Adams R.H. editör. *Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. 8th ed. Blackwell Publishing Professional USA, 2001. p:881.
82. *Pharmacological Aspects of Macrolides and Lincosamides in Animal Therapy*. [web page on the Internet] Erişim Tarihi: 07.09.2010, www.scribd.com/doc/29272972/Macrolides-and-Lincosamides
83. Posyniak A., Zmudski J., Niedzielska J., Biernacki B., Bioequivalence study of two formulations of enrofloxacin following oral administration in chickens. *Bull Vet Inst Pulaway*. 2001; **45**(2): 353-358.
84. Ramadan A. Pharmacokinetics of tilmicosin in serum and milk of goats. *Research in Veterinary Science*. 1997; **62**: 48-50.
85. Resmi Gazete . 28152 sayılı *Veteriner Tıbbi Ürünler Hakkında Yönetmelik* Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı 24. 12.2012 . Erişim 26.12.2011 , <http://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2011/12/20111224-6.htm>
86. Resmi gazete. 21942 sayılı *Farmasötik Müstahzarların Biyoyararlanım ve Biyoşdeğerlilik Değerlendirilmesi hakkında Yönetmelik*. Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı 27.05.1994. Erişim 11.08.2008, www.iegm.gov.tr/Folders/.../farmasotik_mustehzar_d350c0d.pdf
87. Resmi gazete 27919 sayılı - *Türk Gıda Kodeksi-Hayvansal Gıdalarda Bulunabilecek Veteriner İlaçlarına Ait Farmakolojik Aktif Maddelerin Sınıflandırılması ve Maksimum Kalıntı Limitlerinin Belirlenmesi Hakkında Tebliği* Türk Gıda Kodeksi (internette) 29.04.2011. Erişim Tarihi: 19.08.2011, <http://www.gkgm.gov.tr/mevzuat/kodeks/2011-20.html>
88. Roberts G. *Tilmicosin* INCHEM (web on the page) Avustralya: Erişim Tarihi:03.01.2012 <http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v38je06.htm>
89. *Ruhsatlı Veteriner İlaçları* T.C. Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı (internette) Erişim Tarihi: 19.12.2011 <http://www.kkgm.gov.tr/genel/birimfaal.html>
90. Rui P., Shen J., Li J., Jiang H., Ma Z., Li P. The Pharmacokinetics of Tilmicosin administrated Intravenously and Subcutaneously in Healthy Sheep. *Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica*. 2005;**36** (3): 296-300.

91. Scoreaux B., Shryock T.R. Intracellular Accumulation, Subcellular Distribution and Efflux of Tilmicosin in Bovine Mammary, Blood and Lung Cells. *J.Dairy Sci.* 1999; **82**:1202-1212.
92. Shah V.P., Midha K.K., Dighe S., McGilveray I.J., Skelly J.P., Yacobi A. ve ark. Analytical Methods Validation: Bioavailability, Bioequivalence and Pharmacokinetic Studies. *Pharmaceutical Research.* 1992; **9** (4): 588-592.
93. Shen J., Li C., Jiang H., Zhang S., Guo P., Ding S., Li X. Pharmacokinetics of tilmicosin after oral administration in swine. *AJVR* 2005; **66** (6): 1071-1074.
94. Snyder L.R., Kirkland J.J., Glajch J.L. Completing the Method: Validation and Transfer. İçinde *Practical HPLC Method Development* 2nd ed. U.S.A. John Wiley & Sons Inc. 1997; 685-713.
95. Soyer Sarıca Z., Liman B.C. Veteriner İlaçlarda Biyoeşdeğerlilik Kavramı ve Türkiye'deki Yasal Bilimsel Düzenlemeler. *J Fac Vet Med Univ Erciyes* .2007; **42** (2): 115-119.
96. Söğüt Ertaş Ö., Kayalı A. Analitik Yöntem Geçerliliğine Genel Bir Bakış. *Ankara Ecz. Fak. Derg.* 2005; **34**(1): 41-57.
97. Sumano L.H., Ocampo C.L., Gutiérrez O.L. Non-bioequivalence of various trademarks of enrofloxacin and Baytril® in cows. *Dtsch. Tierärztl. Wschr.* 2001; **108**: 311-314.
98. *Summary of Community decisions on marketing authorizations in respect of medicinal products from 1 June 2006 to 30 June 2006* [web page on the Internet] 28.07.2006. Erişim Tarihi: 20.08.2011, <http://eurlex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:C:2006:176:0024:0027:EN:PDF>
99. Şener S. *Veteriner Genel Farmakoloji* . İstanbul: Dilek Ofset; 2004.
100. T.C. Başbakanlık . *Dokuzuncu Kalkınma Planı 2007-2013 İlaç Sanayii Özel İhtisas Komisyonu Raporu*. Ankara: Devlet Planlama Teşkilatı (interette). 2007. Erişim: 19.02.2009 , http://plan9.dpt.gov.tr/oik45_ilac/ilacsan.pdf
101. *Tilmicosin and Related Agents*. [web page on the Internet] Erişim Tarihi: 20.07.2010, http://www.thomsonhc.com/hcs/librarian/ND_T/HCS/ND_CPR/SearchByCategory

102. Tountain P.L., Bousquet-Mèlou A. Bioavailability and its assessment. *J. Vet. Pharmacol. Therap.* 2004; **27**: 455-466.
103. Tountain P.L., Koritz G.D. Veterinary drug bioequivalence determination. *J. Vet Pharmacol Therap.* 1997; **20**: 79-90.
104. Usp. *Macrolides (Veterinary-Systemic)* The United States Pharmacopeial Convention (internette) 2007 Erişim Tarihi: 18.08.2008, <http://www.usp.orgpdf/macrolides>
105. Üney K., Er A., Avcı G.E., Bülbül A., Elmas M., Yazar E. Effect of Tilmicosin on Serum Cytokine Levels in the Endotoxemia. *Journal of Animal and Veterinary Advances.* 2009;**8**(5):1021-1024.
106. Van Bambeke F., Tulkens P.M. Macrolides: pharmacokinetic and pharmacodynamics. *International Journal of Antimicrobial Agents.* 2001;**18**:17-23.
107. Van Reeuwijk L.P., Houba V.J.G. *Guidelines for Quality Management in Soil and Plant Laboratories. (FAO Soils Bulletin - 74)*[web on the page] Roma 1998 Erişim Tarihi: 27.09.2011, <http://www.fao.org/docrep/W7295E/w7295e00.htm#Contents>
108. Womble A., Giguère S., Murthy T.V.S.N., Cox C., Obare E. Pulmonary disposition of tilmicosin in foals and in vitro activity against *Rhodococcus equi* and other common equine bacterial pathogens. *J.Vet.Pharmacol Therap.* 2006; **29**: 561-568.
109. Yazar E., Altunok V., Elmas M., Traş B., Baş A.L., Özdemir V. Effect of Tilmicosin on cardiac muscle and serum creatine kinases activities and serum total protein level in healthy male Balb/C mice. *Revue Méd Vét.* 2001; **152**(12): 881-883.
110. Yazar E., Öztekin E., Sıvrıkaya A., Çöl R., Elmas M., Baş A.L. Effects of Different Doses of Tilmicosin on Monodialdehyde and Glutathione Concentrations in Mice. *ACTA VET BRNO.* 2004; **73**: 69-72.
111. Yıldırım M, Sener S. *Türkiye’de ilaç esdegerliliği ve etiket dışı ilaç kullanımı.* Veteriner ilaçları üretimi, pazarlanması ve güvenli kullanımı sempozyumu. Ankara, 1999, 84-91.
112. Yıldırım M. Veteriner Hekimlikte Yeni Antibiyoterapi Yaklaşımları. *İstanbul Üniv. Vet Fak. Derg.* 2008; **34** (3):19-27.

113. Yılmaz İ. Enrofloksasin içeren iki farklı müstahzarın sığırlarda kas içi yolla uygulama sonrası biyoeşdeğerliliğinin değerlendirilmesi. Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Farmakoloji ve Toksikoloji AbD. Doktora Tezi.. Konya 2006.
114. Zhang J., Li J., Miao X., Zhou X., Li J., Li H. ve ark. Pharmacokinetics of Tilmicosin in Sheep. *Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica*. 2004; **35**(5): 560-564.
115. Ziv G, Shen-Tov M., Glickman A., Winkler M., Saran A. Tilmicosin antibacterial activity and pharmacokinetics in cows. *J Vet Pharmacol Ther*.1995b;**18**: 340-345.

ETİK KURUL KARARI



T.C
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU




Sayı: 146

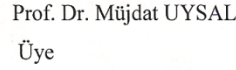
27.10.2008


Sn. Doç. Dr. Murat Yıldırım
İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi

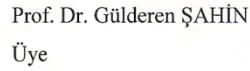
Karar No: 113
Başvuru Tarihi: 20.10.2008

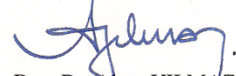
Sorumluluğunu üstlendiğiniz, Araştırma Görevlisi Elif Şahin'e ait "Farklı tilmikosin preparatlarının koyunlarda biyoesdeğerlilik yönünden incelenmesi" isimli proje Kurulumuz tarafından incelenmiş ve Etik Kurul İlkelerine uygun bulunmuştur.

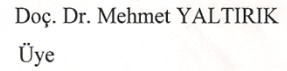

Prof. Dr. Mehmet KAYA
İ. Ü. HADYEK Başkanı

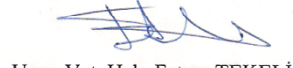

Prof. Dr. Müjdat UYSAL
Üye

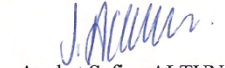

Prof. Dr. Nuriye AKEV
Üye

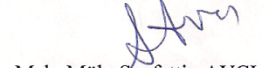

Prof. Dr. Gülderen ŞAHİN
Üye


Doç. Dr. Alper YILMAZ
Üye


Doç. Dr. Mehmet YALTIRIK
Üye


Uzm. Vet. Hek. Fatma TEKELİ
Üye


Avukat Safiye ALTUN
Üye


Mak. Müh. Seyfettin AVCI
Üye

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Elif	Soyadı	Şahin
Doğ. Yeri	İstanbul	Doğ. Tar.	07.10.1981
Uyruğu	TC	TC Kim No	13165808732
Email	eyaman@istanbul.edu.tr	Tel	0 212 473 70 70 / 17145

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
Doktora	İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Abd	2005-2012
Yük.Lis.		
Lisans	İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi	1999-2004
Lisans	Anadolu Üniversitesi İşletme Fakültesi	2003-2010
Lise	Haydarpaşa Lisesi (Yabancı Dil Ağırlıklı – Super Lise)	1995-1999

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1.	Araştırma Görevlisi	İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi	2005- -
2.			-
3.			-

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*	ÜDS Puanı	(Diğer) Puanı
İngilizce	Çok iyi	İyi	İyi	67.500	

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
LES Puanı	51,565	52,551	53,496
(Diğer) Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
Microsoft Office	İyi
Microsoft Windows	İyi

Yayımları/Tebligleri Sertifikaları/Ödülleri

Yayımlar

1. Yıldırım M., Şahin E. Veteriner Farmakoloji ve Toksikolojide Transport Proteinleri. *İstanbul Üniv. Vet. Fak. Derg.* 2008: **34** (3); 9-17.
2. Aydın H., Baran A., Aktaş A., Demir K., Şahin E., Kayar A. ve ark. Effects of Soybean Extract and L-Tryptophan on 2,4-Dichlorophenol Induced Testicular Toxicity in Mice. *Journal of Animal and Veterinary Advances.* 2009: **8** (4); 774-778.
3. Yıldırım M., Şahin E. ABCG2 Gene Polymorphism in Holstein Cows of Turkey. *Kafkas Univ. Vet. Fak. Derg.* 2010: **16** (3); 473-476.

Tebliğler

1. Yaman E., Yıldırım M. Veteriner Farmakoloji ve Toksikolojide Transport Proteinleri. 6-7 Eylül 2007 II. Ulusal Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji Kongresi. Kongre Bildiri Kitabı :S11
2. Yıldırım M., Yaman E., "A Polymorphisim ABCG2 Gene In Holstein Cattles of Turkey" . 6 th Joint Scientific Symposium of the Veterinary Faculties of T.C. Istanbul University and Ludwing-Maximillians -Universitat München. 10-11 April 2008. S73
3. Aydın H., Baran A., Aktas A., Demir K., Sahin E., Kayar A., Pabuccuoglu S., Daglioglu S. "2,4-DCP-induced testicular toxicity and effects of soybean extract and L-Tryptophan" International Congress on Animal Reproduction. 13-17 July 2008. Budapest/Hungary
4. İslamoğlu, C., Şahin, E.: Sucul Ekosistemlerdeki Genotoksisite Çalışmalarının Önemi, 3. Ulusal Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji Kongresi, 29 Eylül- 2 Ekim 2010. AYDIN.

Sertifikalar

1. "Deney Hayvanlarının Biyolojik Araştırmalarda Kullanılması Kursu" (İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü) 14- 15 Aralık 2005
2. "Genetik Araştırmalarda Kullanılan Yöntemlerin Farmakolojide Uygulamaları" (Türk Farmakoloji Derneği – 13.Farmakoloji Eğitim Sempozyumu) 02.06. 2006
3. "Programlı Hücre Ölümü Sempozyumu" (İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı ve Sürekli Tıp Eğitimi Komisyonu, Sabancı Üniversitesi Mühendislik- Doğa Bilimleri Fakültesi ve Türk Elektron Mikroskopi Derneği) 09.04.2008.
4. "Farmakoloji ve Toksikolojide Kromatografik Teknikler ve Analiz Öncesi Örnek Hazırlama Yöntemleri" (Üçüncü Ulusal Farmakoloji ve Toksikoloji Kongresi)30.09.2010

5. “Veteriner Farmakokinetik Çalıştayı” (Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji Derneği) 24.09.2011
6. “Method Validation for Testing Laboratories accredited under the Standard ISO 17025” (Strengthenin Quality Infrastructure in Turkey Project – TR0707.12.01/001) 28.09.2011
7. “Accreditation Standard ISO 17025”(Strengthenin Quality Infrastructure in Turkey Project – TR0707.12.01/001) 26-27.09.2011
8. “Measurement Uncertainty for Testing Laboratories” (Strengthenin Quality Infrastructure in Turkey Project – TR0707.12.01/001) 29-30.09.2011

Proje

1. Sınırlı bir Holştayn popülasyonunda ABCG2 gen polimorfizmi TÜBİTAK TOVAG Proje no: 107O302 (Yardımcı araştırmacı)

Burs

1. Doktora Eğitimi süresince TÜBİTAK Yurt İçi Doktora Bursu.

Özel İlgi Alanları (Hobileri):