



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



**PARENTERAL OLARAK KULLANILAN
BAZI ENROFLOKSASİN
MÜSTAHZARLARININ BUZAĞILARDA
BİYOEŞDEĞERLİĞİNİN İNCELENMESİ**

GÜL BANU ÇİÇEK BİDECİ

**FARMAKOLOJİ VE TOKSİKOLOJİ ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Sezai KAYA**

2011- ANKARA

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

PARENTERAL OLARAK KULLANILAN
BAZI ENROFLOKSASİN
MÜSTAHZARLARININ BUZAĞILARDA
BİYOEŞDEĞERLİĞİNİN İNCELENMESİ

GÜL BANU ÇİÇEK BİDECİ

FARMAKOLOJİ VE TOKSİKOLOJİ ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Sezai KAYA

2011- ANKARA

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay	ii
İçindekiler	iii
Önsöz	v
Simgeler ve Kısaltmalar	vi
Şekiller	vii
Çizelgeler	viii
1. GİRİŞ	1
1.1. Biyoeşdeğerlik	1
1.1.1. Biyoyayarılanım/Biyoeşdeğerlik Ölçütleri	2
1.2. Enrofloksasin	2
1.2.1. Özellikler	2
1.2.2. Farmakokinetik	3
1.2.3. Farmakodinamik	4
1.2.4. Kullanılması	5
1.2.5. İstenmeyen Etkiler	5
1.2.6. Türkiye’de Ruhsatlı Enrofloksasin Müstahzarları	6
2. GEREÇ ve YÖNTEM	8
2.1. Gereç	8
2.1.1 Araç ve Cihazlar	8
2.1.2. Kimyasal Maddeler, Çözeltiler ve İlaçlar	8
2.1.3. İlaç ve Standartlar	9
2.1.3.1 Stok Standart Çözelti	9
2.1.3.2. Çalışma Standart Çözeltiler	9
2.1.3.3. Pozitif Numunelerin Hazırlanması	9
2.1.3.4 İlaç Müstahzarları	10
2.1.4. Laboratuvar Malzemeleri	10
2.1.5. Mobil Faz	11
2.2. Yöntem	11
2.2.1. Deney Hayvanları Bakım ve Beslenmesi	11
2.2.2. Hayvanların Gruplandırılması	11
2.2.3 İlaçların Verilmesi Ve Doz	12

2.2.4 Kan Numunelerinin Toplanması	12
2.2.5. Plazmada İlaç Analizi	12
2.2.5.1. Plazmada Enrofloksasin Yoğunluklarının Ölçülmesi	13
2.2.5.2. Standartların Çıkış Zamanlarının Belirlenmesi	13
2.2.5.3. Duyarlılık Limiti ve Geriye Kazancın Belirlenmesi	13
2.2.6. Farmakokinetik Hesaplamalar	14
2.2.7. İstatistiksel Hesaplamalar	14
2.2.8. Biyoeşdeğerlik Parametreleri	14
3. BULGULAR	15
3.1. Yöntemin Duyarlılığı, Tekrarlanabilirliği ve Geriye Kazanç	15
3.1.1. Enrofloksasin'in YBSK'de Çıkış Zamanı	15
3.1.2. Standart Eğri ve Geriye Kazanç Denemeleri	17
3.1.3. Yöntemin Duyarlılığı	19
3.2. İlaç Müstahzarlarının Etkin Madde Miktarları	19
3.3. Plazma İlaç Yoğunlukları	21
3.4. Farmakokinetik Değişkenler	22
3.5. Biyoeşdeğerliğin Değerlendirilmesi	22
4. TARTIŞMA	24
5. SONUÇ ve ÖNERİLER	30
ÖZET	32
SUMMARY	33
KAYNAKLAR	34
ETİK KURUL KARARI	40
ÖZGEÇMİŞ	41

ÖNSÖZ

Bazı ilaçlar aynı veya benzer formülasyonlar halinde hazırlanırlar; böyle formülasyonların da hayvanlardaki benzeri şekilde veya derecede etkili olacakları kabul edilir. Ancak, benzer ilaç formülasyonlarının aynı derecede etkili olmadıkları da söz konusu olabilmektedir; bu durum biyoeşdeğerlik çalışmaları ile ortaya konulur. Çalışmada buzağılarda parenteral olarak kullanılan iki enrofloksasin müstahzarın biyoeşdeğerliği belirlemek amaçlanmıştır. Her geçen gün yeni ilaç firmaları ve yeni ilaçlar piyasaya sürülmekte ve ilaç endüstrisi günden güne büyümektedir. Piyasaya yeni çıkan bir ilacın etkinliğinin araştırılması ancak biyoeşdeğerlik çalışmaları ile mümkündür. Ülkemizde veteriner hekiminde kullanılan ilaçlarda biyoeşdeğerlik ile ilgili düzenleme mevcut değildir.

Doktora eğitimi ve çalışmasının gerçekleşmesini sağlayan Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü ile Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı Başkanlığı'na, her zaman desteğini esirgemeyen danışman hocam Prof. Dr. Sezai KAYA, tez izleme komitesi üyeleri Prof. Dr. Ender YARSAN ve Prof. Dr. Mehmet ŞAHAL'a, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerine, çalışmanın deneysel aşamalarında yardımcı olan Araş. Gör. Dr. Levent ALTINTAŞ, Kimyager Süreyya KARAASLAN ve diğer çalışanlara, Kırıkkale Üniversitesi Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalında Araş. Gör. Dr. Hüsametdin EKİCİ'ye, istatistiksel hesaplama kısmında yardımcı olan Bioistatistik Anabilim Dalında Araş. Gör. Doğukan Özen'e, Doç. Dr. İ. Safa Gürcan'a çalışmanın her aşamasında yardımlarını esirgemeyen Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalında Araş. Gör. Dr. Ayşe KANICI'ya, çalışmanın deneysel aşamalarında yardımcı olan Kastamonu Güven Polikliniği çalışanları ve Dr. Zafer KALAYCIOğLU'na, Tarım İşletmeleri Genel Müdürlüğü Hayvancılık Daire Başkanlığı Baş Uzman Sami ÖZTÜRK'e, Karaköy Tarım İşletme Müdürü Erdinç KUZUOğLU'na, kan alma sırasında yardımlarından dolayı eşim Abdulkadir BİDECI'ye, işletme veteriner hekimi Mehmet TALMAÇ'a ve diğer çalışanlara, analizlerin ölçülmesinde destek sağlayan Düzen Laboratuvar Grubu çalışanlarına, Dr. Murat ÖKTEM'e, Elif ERKAN KURTOğLU, Mehmet DEVECİ'ye, maddi manevi desteklerini esirgemeyen Umut Veteriner Medikal Hayvancık San. Tic. Ltd. Şirketine teşekkür ederim.

Bana her konuda yardımcı ve destekçi eşim, ailem ve arkadaşlarıma teşekkürü bir borç bilirim.

SİMGELER VE KISALTMALAR

AB	Avrupa Birliği
ABD	Amerika Birleşik Devletleri
ACN	Asetonitril
ANOVA	Tek Yönlü Varyans Analizi
α	Plazma ilaç yoğunluğu dağılıma dönemi hız sabitesi
β	Plazma ilaç yoğunluğu
c.a	Canlı ağırlık
EAA	Plazma ilaç yoğunluğu-zaman eğrisi altında kalan alan
EMA	The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products
k_a	Emilmesi verilmelerde birinci derece emilme hız sabitesi
ml	Mililitre
μg	Mikrogram
OKS	İlacın vücuttan %63,2'sinin atılması için geçen süre
PKCALC	Pharmacokinetic Calculation
t_{doruk}	Plazma ilaç yoğunluğunun doruk değere ulaşma süresi
$t_{1/2a}$	Ağızdan verilme durumunda sindirim kanalından emilme yarı ömrü
$t_{1/2\alpha}$	Dağılıma dönemi yarı ömrü
$t_{1/2\beta}$	Atılma dönemi yarı ömrü
Y_{doruk}	Plazma doruk ilaç yoğunluğu
YBSK	Yüksek Başınçlı Sıvı Kromatografisi

ŞEKİLLER

Şekil 3.1.1.1	Enrofloksasin etkin maddesinin kromotogramı (1 µg/ml çözeltiden 20 µl)	15
Şekil 3.1.1.2	Enrofloksasin etkin maddesinin kromotogramı (1 µg/ml çözeltiden 20 µl)	16
Şekil 3.1.1.3	İlaç içermeyen temiz plazma kromotogramı	16
Şekil 3.1.2.1	Belirli yoğunluktaki Enrofloksasinin YBSK'deki pik alanlarından yararlanılarak hazırlanan standart eğri	17
Şekil 3.1.2.2	173 kulak numaralara hayvana ait 0,5. saat kromotogramı	18
Şekil 3.1.2.3	173 kulak numaralara hayvana ait 1. saat kromotogramı	18
Şekil 3.1.1.4	173 kulak numaralara hayvana ait 2. saat kromotogramı	19
Şekil 3.2.1	Referans İlaç kromotogramı	20
Şekil 3.2.2	Test İlaç kromotogramı	20
Şekil 3.3.1	Referans ve Test İlaçlarının kas içi 2,5 mg/kg uygulanması sonucu çizilen enrofloksasinin plazma ilaç yoğunluğu –zaman eğrileri	21

ÇİZELGELER

Çizelge 1.2.6.1	Türkiye'de ruhsatlı enrofloksasinin parenteral kullanıma uygun müstahzarları	6
Çizelge 2.1.3.2.1	Enrofloksasin standard ve geri kazanımda kullanılmak için hazırlanan yoğunlukları	9
Çizelge 2.2.2.1	Kan alınan hayvanlar ve kulak numaraları	12
Çizelge 3.2.1	Referans ve Test ilaçlarının etkin madde miktarları	20
Çizelge 3.3.1	Enrofloksasinin zamana göre plazma ilaç yoğunlukları	21
Çizelge 3.4.1	Referans ve Test İlaçlarının farmakokinetik değişkenleri (aritmetik ortalama \pm standart hata, en alt- en üst değerleri)	22
Çizelge 3.5.1	Referans ve Test İlaçlarının logoritmik dönüşüm sonucu bazı farmakokinetik değişkenleri (aritmetik ortalama \pm standart hata, en alt- en üst değerleri) ve Test ilacın biyoeşdeğerliği	23

1. GİRİŞ

1.1. Biyodeşdeğerlik

Bu terim; aynı etkin maddeyi içeren benzer formülasyonlarının da benzer etkiler oluşturacakları yönünde birbirine benzer olduklarını ifade eder; eşdeğerlilik çeşitli şekillerde incelenir. Farmakolojik eşdeğerlilik; bu durum iki ayrı farmasötik şeklin içine, kimyasal olarak farklı ama vücutta aynı etkin molekülleri ortaya çıkaran ve aynı farmakolojik etkiye yol açan moleküllerin katılması durumudur. Farmasötik eşdeğerlilik; aynı türden farmasötik şekle aynı maddenin eş miktarının katılmasını durumunu ifade eder. Kimyasal eşdeğerlilik; bu aynı etkin maddeyi yine aynı miktarda içeren ve aynı dozda kullanılan, değişik farmasötik şekillerdeki bir ilacın resmi öngörülerde mevcut fiziko- kimyasal özellikleri taşımasını ifade eder. Klinik eşdeğerlilik; aynı canlıda aynı doz ve doz aralığında verildiğinde aynı sağaltıcı etkiye yol açan farmakolojik, kimyasal veya farmasötik olarak eşdeğer ilaçları veya ilaç şekillerini karşılayan bir terimdir (Kaya ve ark., 2000b).

Farmasötik olarak eşdeğer iki ürünün (test ve referans) aynı molar dozda hedef türdeki canlıya uygun yolla verilışinden sonra biyoyararlanımlarının ve böylece terapötik etkilerinin hem etkinlik, hem de güvenlik bakımından aynı olmasını sağlayacak derecede benzer olmasına biyolojik eşdeğerlilik veya biyodeşdeğerlik denir (Kaya ve ark., 2000b; Traş ve ark., 2005; Kayaalp, 2008).

İki formülasyonun biyodeşdeğerliğinin incelenmesinde-belgelenmesinde, birisi *in vitro*, diğerleri *in vivo* iki tip denemeye başvurulur; *in vitro* olarak çözünme testleri, *in vivo* olarak da plazma-ilac yoğunluklarının belirlenmesi, ilac yoğunluğu zaman eğrisi profilinden hareketle farmakodinamik incelemede klinik etki veya yararlılıktır (Toutain ve Koritz, 1997). Biyodeşdeğerliği test etmek için kandaki etkin madde yoğunluğunu seyrinin zamana bağlı olarak çizilmesi ilk tavsiye edilen metottur. Bir veteriner ürününün biyodeşdeğerliği sistemik dolaşıma katılarak etki yerlerinde yararlanılabilir olan etkin maddenin hız ve miktarıyla tarif edilir. Hız ve miktarı belirleyen en önemli parametreler incelenen madde ya da maddelerin emilme hızı (plazma doruk yoğunluk, Y_{dorum} ; doruk yoğunluğa ulaşma süresi, t_{dorum}) ve vücuda giren miktarı (eğri altında alan, EAA) belirlenir ve değerlendirilir (EMEA, 2001b; Traş ve Yazar, 2002; Clark ve ark., 2003).

Biyoyararlanım/biyoeşdeğerlik çalışmalarında önemli bir kriter olan EAA'yı hesaplamak için üç yarılanma ömrü boyunca uygun aralıklarla kan örnekleri alınmalıdır. Üç yarılanma ömrü toplam EAA'nın % 87,5'ini temsil eder; kan örnekleri, plazma ilaç yoğunluğu-zaman eğrisinin inen ve çıkan kısımlarını tam olarak karakterize edebilecek sıklıkta alınmalıdır. Bu da yaklaşık 10-15 kan örneği alınmasını gerektirir (Öner, 2003).

1.1.1. Biyoyararlanım/Biyoeşdeğerlik Ölçütleri

İki ilacın biyoeşdeğer olması için, EAA'larının ve Y_{doruk} oranlarının %90 güven aralığında ve %80-125 sınırları arasında olması gerekir (Hantash ve ark., 2008). Geniş güven aralığına sahip ilaçlar için daha geniş sınırlar kabul edilebilir; ancak, dar güven aralığına sahip ilaçlar için %20'lik bir fark bile kabul edilmeyebilir. Y_{doruk} değeri örnekleme zamanına bağlı olarak geniş değişkenlik gösterdiğinden, güven aralığı %70–143 sınırları arasında kabul edilebilir. T_{doruk} değeri kullanılacağı zaman değişkenliğinin mutlak güven aralığı kabul edilebilir olarak seçilmelidir; 10 dakikalık t_{doruk} için %20 değişkenlik ile 120 dakikalık t_{doruk} için %20 değişkenlik aynı anlama gelmez. Bu nedenle t_{doruk} için biyoeşdeğerlik genişliği dikkatli seçilmelidir. İyi bir ilaç ürünü biyoeşdeğerliğini dolayısıyla biyoyararlanım ölçümlerindeki performansını raf ömrü boyunca korumalıdır (Resmi Gazete, 1994; Colwell ve ark., 1998; FDA, 2000; EMEA, 2001a; FDA 2002; Traş ve Yazar, 2002; Öner, 2003; Şahin, 2003).

1.2. Enrofloksasin

1.2.1. Özellikler

Enrofloksasin veteriner hekimliğine ilk giren yeni nesil kinolon türevi ilaçtır. 1-siklopropil-6-floro-1,4-dihidro-4-okso-7-(4-etil-1-piperazinil)-3-kuinolin karboksilik asit yapısındadır. Nalidiksik asit çekirdeğinden türetilen sentetik 6-florokinolonlar veya 4-kinolonlar grubuna aittir. Sadece veteriner hekimliği alanında kullanılmak üzere geliştirilmiş, bakterisid etkili antimikrobiyel bir ilaçtır. (Davidson ve ark., 1986; Cabanes ve ark., 1992; Kaya, 2000a).

Çekirdek yapısındaki 3- ve 4- pozisyonlarında yer alan karbonil grupları (C=O), genel olarak florokinolonların antimikrobiyel etkinlikleri için gereklidir. Bu gruplar DNA jiraza bağlanma

bölgesini oluştururlar. Altı pozisyonunda yer alan bir flor atomu, Gram negatif mikroorganizmalara karşı etkinliği artırırken, Gram pozitif bakterilere karşı etki spektrumunun genişlemesini sağlar. Yedi pozisyonundaki piperazin halkası pseudomansları içine alacak şekilde, antimikrobiyel etkinliği artırır. Piperazin halkasına bitişik durumda bir C₂H₅ grubunun bulunması, dokulara geçişi artırır ve beyinde gamma-amino butirik asit (GABA) reseptörlerine bağlanan etkin madde miktarını azaltarak, merkezi sinir sistemi (MSS) üzerindeki zehirli etkiyi zayıflatır. Karboksilik asit veya daha fazla sayıda amin fonksiyonel grubun (bazik) bulunması, moleküle amfoterik veya zwitteriyonik özellikler kazandırır. Bundan dolayı, asidik ve bazik fonksiyel grupları pKa değerlerine bağlı olarak, yağda çözünebilir, doku, irin ve organik artıklara nüfuz edebilir (Altreuther, 1987; Bayer, 1999).

1.2.2. Farmakokinetik

İlaç ağızdan ve parenteral yollarla kullanılır; uygulama yerlerinden genellikle iyi emilir. Tüm doku ve organlara dağılır. Dağılım hacmi geniştir; hayvan türüne göre 0,6-3 L/kg arasındadır. Tükürük ve bronş salgılarındaki doruk ilaç yoğunluğu serumdakinden düşük, ancak akciğer dokusundaki yoğunlukları serumdakinden fazladır (Neuman, 1988). Akciğerdeki yoğunluğu plazmadakinin birçok katına (dana ve sığırlarda 4-5,5 kat) çıkabilir. Beyin ve omurilik sıvısına zor geçer (Anadon ve ark., 1990). Sindirim kanalından danalarda %50 ve kanatlılarda %60' dan fazla emilir; danalara 2,5 mg/kg dozda uygulandığında 60 dk' da 0,9 µg/ml'doruk plazma yoğunluğuna ulaşır ve genellikle 12 saat süreyle 0,5 µg/ml'nin üzerinde kalır (Kaya ve ark., 1996).

Enrofloksasin sığırlarda da benzer farmakokinetik özellikler gösterir. Sağmal sığırlarda parenteral yolla 5 mg/kg dozda uygulanan enrofloksasinin 4-8. saatler arasında sütte 1,3-2,5 µg /ml'lik doruk yoğunluğa ulaşır, dağılım hacmi geniştir (1L/kg) ve 5,9 saat gibi uzun bir yarı ömrü vardır (Kaartinen ve ark., 1995).

Enrofloksasinin, aminoglikozidler, tetrasiklinler gibi ilaçların dirençli olduğu bakterilere karşı etkili olması, hastaların tahammülünün iyi olması (Kaya, 2000a), sindirim kanalı ve parenteral uygulama yollarından iyi emilmesi (Kaartinen ve ark., 1997; Bauditz, 1987), prostat ve eklem kesesi sıvısı dahil vücudun tüm kesimlerine iyi nüfuz etmesi (Posniyak ve ark., 1999), dağılım hacminin büyük olması (Elmas ve ark., 2000), hücre içine iyi girmesi ve buradaki bakterilere etkinliğinin iyi olması (Kaya, 2000a), diğer antibakteriyel ilaçlarla

karşılaştırıldığında düşük yoğunluklarda etkili olması gibi üstünlükleri vardır (Posniyak ve ark., 1999).

İlaç vücutta, siprofloksasin de dahil olmak üzere, birçok etkili- etkisiz metabolite çevrilir; %10-50 kadarı değişmemiş halde olmak üzere idrar ve safrayla atılır. Atılma yarı ömrü danalarda 5-6 saat arasındadır (Kaya, 2007). Glomerüler filtrasyon ve probenisiide duyarlı tubüler sekresyon sayesinde idrarda yüksek yoğunluğa ulaşır. Böbrek yetmezliklerinde atılım azalacağından, hastaların durumu gözden geçirilerek gerekli doz ayarlaması yapılmalıdır. İkincil olarak da karaciğer yoluyla atılır. Safrayla atılma hayvan türlerine göre değişir. (Vancutsem ve ark., 1990).

Enrofloksasinin ağızdan demir, aliminyum, magnezyum, kalsiyum gibi iki veya üç değerli maddelerle birlikte verilmesi hayvanlarda emilmesini azaltabilir. Bu nedenle bu tür antiasitlerden 1-1.5 saat önce veya sonra verilmelidirler (Vancutsem ve ark., 1990).

1.2.3. Farmakodinamik

Enrofloksasin duyarlı bakterilerde DNA *jirazin* (*topoizomeraz II*), etkinliğini engeller. Memeli hücreleri bu enzimden yoksun olduğu için bu ilaçlar sadece seçici bir şekilde etkilerler. Bu enzimlerin inhibisyonu sonucu, DNA kalıbı çıkamadığı için bölünme gerçekleşmez ve bakteriler normal olmayan biçimde uzayarak ölürler (Anadon ve ark., 1990; David ve ark., 1991; Plumb,1991; Anadon ve ark., 1995, Kaya ve ark., 1996, Kaya ve ark., 1997; Elmas ve Traş, 1999; Kaya, 2007).

Enrofloksasinin etki spektrumu geniştir. Gram negatif, Gram pozitif bakterilere, *mikoplazma*, *Riketsiya*, *Ehrichia* ve *Chlamidia*'lara son derece etkilidir (Elmas ve ark., 2000, Elmas ve ark., 2001)

Gram negatif bakterilere olan etkinliği Gram pozitif bakterilerden daha üstündür (Bayer,1999; David ve ark., 1991). Enterobakter (*E.coli*, *Salmonella*, *Klebsiella*) ailesi enrofloksine özellikle duyarlıdır (Kung ve ark., 1993).

1.2.4. Kullanılması

Enrofloksasin, özellikle gevişenler ve kanatlıda olmak üzere, tüm evcil hayvanlarda kullanılır. Buzağılarda ağızdan ve parenteral olarak, kolibasillozdan kaynaklanan septisemi vakalarında, bağırsak yangılarında, solunum sistemi hastalıklarında kullanım alanı bulur (Bauditz, 1987; Davidson ve ark., 1986; Kaartien ve ark., 1997). Enrofloksasin gevişenlerde *E.coli*, *Salmonella spp.*, *Clostridium perfringes* bakterilerinden kaynaklanan bağırsak yangılarında, *Pasteuralla multocida*, *Pasteuralla haemolytica*, *Haemophilus somnus*'un neden olduğu solunum sistemi hastalıklarında, *E.coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*'un izole edildiği mastitis vakalarında ve *Moraxella bovis*'den kaynaklanan göz hastalıklarında kullanılır (Davidson ve ark., 1986; Bauditz, 1987; Bayer, 1999). Enrofloksasin 2,5 – 5 mg/kg dozlarında buzağılarda ağızdan ve parenteral olarak, sığırlarda parenteral olarak günde 1-2 sefer kullanılır (Davidson ve ark., 1986; Bayer, 1999; Kaya, 2000a). Tavuk, hindi, ördek, kaz ve civcivlerde 10 mg/kg c.a dozunda içme suyuna katılarak 3-5 gün süreyle uygulanır (Paton ve ark., 1988; Kaya, 2007). İlaç balıklarda *Aeromonos salmonicida*, *A.hydrophila* ve *Vibrio* türlerine karşı suya 0,8- 1mg/kg miktarlarında katılarak 24 saat banyo şeklinde; ayrıca yeme 1-3 mg/kg miktarlarında katılarak 10 gün süreyle kullanılabilir (İbrahim, 2006; Kaya, 2007).

1.2.5. İstenmeyen Etkileri

Genellikle güvenli bir maddedir. Teratojenik ve mutajenik etkisi yoktur (Altreuther, 1987). Fakat kıkırdak dokunun gelişmesini ve eklemleri bozabilir. Çok yüksek dozlarda kullanıldığında yavru ve genç hayvanlarda kıkırdak dokusu ve eklemlerde hasara neden olduğundan köpek ve atlar başta olmak üzere, büyümekte olan hayvanlarda enrofloksasinin kullanılmasının sakıncalı olduğu bildirilmiştir. Enrofloksasinin tendo yırtılmasına neden olduğuna ilişkin ilk bilgiler 1991'de bildirilmiştir (Walker and Dowling, 2006; Kaya, 2007).

İki haftalık buzağılar 14 gün süreyle 15 mg/kg ve 7 gün süreyle 30 mg/kg dozda verilen enrofloksasine dayanırlar. İlacın suyla 1000 mg/L miktarda 3 gün süre ile verilmesi, damızlık tavuk ve hindilerde su tüketimi, döl verme, yumurtlama ve yumurtadan çıkan civciv oranında bir değişikliğe sebep olmaz. Beagle ırkı köpek yavrularına (1,5-2,5 haftalık) 30-60 mg/kg

dozlarda 14 gün süreyle kıkırdak dokusunda hasara sebep olur (Vancutsem ve ark., 1990; Kaya, 2007).

1.2.6. Türkiye’de Ruhsatlı Enrofoksasin Müstahzarları

Türkiye’de çeşitli formülasyonlar halinde 74 dolayında enrofoksasin müstahzarı vardır; Aralık 2010 itibariyle bunların 33’ü (Çizelge 1.2.6.1) sığırlarda ve buzağılarda parenteral kullanıma uygun çözeltili halindedir (kkgm. gov.tr).

Çizelge 1.2.6.1. Türkiye’de ruhsatlı enrofoksasinin parenteral kullanıma uygun müstahzarları.

Müstahzar ismi	Üretici Firma	Etkin madde miktarı
Baytril-k %5	Bayer	50 mg/ml
Baytril %10	Bayer	100 mg/ml
Enrolen %10	Alke	100 mg/ml
Hıpralona enro-ı	Hipra	50 mg/ml
Vil-floks	Vilsan	100 mg/ml
Enroxil	Provet	100 mg/ml
Floksin %10	Galenka	100 mg/ml
Enrocure	Teknovet	100 mg/ml
Killoxacin %5	Bavet	50 mg/ml
Killoxacin %10	Bavet	100 mg/ml
Menafloks %10	İ.e.veteriner	100 mg/ml
Kinoloks	Etkin	100 mg/ml
Enroxlacin %10	Aksu ecz.	100 mg/ml
Gloxirem %10	Aktifarm	100 mg/ml
Vetril %10	Vetaş	100 mg/ml
Vilfloks %5	Vilsan	50 mg/ml
Vetril %5	Vetaş	50 mg/ml
Enrotech	Avess	100 mg/ml
Enofilin %5	Arma	50 mg/ml
Enofilin %10	Arma	100 mg/ml
Ekoflox %10	Ekomed	100 mg/ml
Enrovet %10	Topkim	100 mg/ml
Roxanova	Cyb	100 mg/ml
Enrodes %10	Desiva	100 mg/ml
Enjeflox %10	Ege-vet	100 mg/ml
Enofilin-s	Arma	100 mg/ml
Enroful	Denova	100 mg/ml
Vet-enro	Vet-hek	100 mg/ml
Enrosym %10	Smyrna	100 mg/ml
Mediflox-e-100	Safa tarım	100 mg/ml
Baytril max	Bayer	100 mg/ml

Çalışmada, Türkiye'de buzağılarda parenteral olarak kullanılmak üzere ruhsatlandırılmış enrofloksasin içeren 2 müstahzarın (birisi ilk ruhsatlı, diğeri daha sonra ruhsatlandırılmış olanlardan seçilecek) biyoeşdeğerliklerin incelenmesi; farmasötik yönden benzer/birbirinin aynısı olan müstahzarların bazı farmakokinetik değişkenler esasına göre benzerliklerinin veya aralarında fark olup-olmadığının ortaya konulması; böylece, klinik sağaltım yönünden birbirinin yerine kullanılabilme durumunun belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Gereç

2.1.1. Araç ve Cihazlar

- Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi (YBSK): Agilent Technologies, Model 1100 series, Kalifornia) ve ekleri
- Dedektör: VWD, G1314A, Serial JP24020987
- Kolon ısıtıcı: COLCOM, G1316A, Serial DE32133649
- Autosampler: ALS, G1329A, DE23910894
- Kolon: Nucleosil 100 - 5 C18 150, 4,6 µm Seri No: E 10021556, Macherey-Nagel
- Hassas Terazî: Metler Toledo, Switzerland, XS-105 D4 mikro terazî, Max 41g/120g d= 0,01 mg/0,1 mg Seri No: B003004276
- Vortex: Fisher Scientific, USA, AC 115/230 V, 50/60 Hz , 51 W, 3200 rpm Seri No. 022 15366
- Santrifüj: Nüve, Turkey, NF 800R, RS 24 rotor, 4000 rpm, Seri No. 02-0098
- pH Metre: Thermo, Orion 3 Star pH Benchtop, USA Seri No. 01514
- Deiyonize Su Cihazı: Human Power III UV, Seri No: HMTU-3030318

2.1.2. Kimyasal Maddeler Çözeltiler ve İlaçlar

- Asetonitril (ACN): Gradient Grade for Liquid Chromatograph, Merck 100030
- Trietilamin (C₂H₅)₃N: Sigma T-0886
- Metanol: Gradient Grade for Liquid Chromatograph, Merck 100067
- Deiyonize su
- Enrofloksasin: Etkinliği %100.3, Üretim Tarihi 01.01.2009, Son Kullanma Tarihi 01.01.2011 Seri No 176293, Lot 010001160374, Batch KP047PZ. Doğrudan Bayer Türk A.Ş'dan temin edildi.

2.1.3. İlaç ve Standartlar

2.1.3.1. Stok Standart Çözelti

Enrofloksasin stok standardı (1mg/ml): 10 mg enrofloksasin tartılarak, 10 ml metanolde çözdürüldü.

2.1.3.2. Çalışma Standart Çözeltiler

Enrofloksasin çalışma standardı 1 (0,1 mg/ml): 1 mg/ml enrofloksasin stok standart çözeltisinden 100 µl alındı; metanolla 1 ml 'ye tamamlanarak hazırlandı. Bu çalışma standart çözeltisinden 0,25; 0,5 µg/ml'lik seyreltmeler hazırlandı. İlaç içermeyen plazma numunelerine katılarak, pozitif numuneler hazırlandı. YBSK'de enrofloksasin ölçümü yapıldı.

Enrofloksasin çalışma standardı 2 (0,01 mg/ml): Enrofloksasin çalışma standardı 1' den 100 µl alındı; metanolla 1 ml'ye tamamlandı. Bu çalışma standart çözeltisinden 1; 2,5; 5 µg /ml'lik seyreltmeler hazırlandı. İlaç içermeyen plazma numunelerine katılarak, pozitif numuneler hazırlandı. YBSK'de enrofloksasin ölçümü yapıldı.

Çizelge 2.1.3.2.1. Enrofloksasin standard ve geri kazanımda kullanılmak için hazırlanan yoğunlukları.

Çalışma Standart (µl)	Plazma veya Metanol ((µl)	Standart Yoğunluğu (mg/ml)	Son Yoğunluk (µg/ml)
Çalışma Standartı 1: 25	9975	0,1	0,25
Çalışma Standartı 1: 50	9950	0,1	0,50
Çalışma Standartı 2: 10	9990	0,01	1,0
Çalışma Standartı 2: 25	9975	0,01	2,5
Çalışma Standartı 2: 50	9950	0,01	5,0

2.1.3.3. Pozitif Numunelerin Hazırlanması

Enrofloksasin 0,25 ve 0,5 µg/ml'lik seyreltmeleri için enrofloksasin çalışma standardı 1; 1; 2,5; 5 µg /ml'lik seyreltmeleri için enrofloksasin çalışma standardı 2 kullanıldı. Enrofloksasin

çalışma standardı seyreltmeleri YBSK'de okunduktan sonra hesaplanan sonuçlarla, bu çalışma standartları ilaç içermeyen temiz plazmalara katılıp özütleme işlemi tamamlandıktan sonra alınan sonuçlar karşılaştırıldı; duyarlılık limiti ve geriye kazanç belirlendi.

2.1.3.4. İlaç Müstahzarları

Referans İlaç: 50 mg/ml enrofloksasin, Enj. Sol. 20 ml/şişe

Test İlaç: 100 mg/ml enrofloksasin; Enj. Sol. 20 ml/şişe

Referans ve Test İlaç doğrudan üretici firmalardan temin edildi. İlaçların üretim ve son kullanma tarihi, seri numarası gibi tanımlayıcı bilgiler kaydedildi. Çalışmaya başlamadan önce, ilaçların etkin madde miktarları ölçüldü.

2.1.4. Laboratuvar Malzemeleri

- Heparinli Tüp Vakumlu: 10 ml
- Holderlar (Plastik İğne Tutacağı)
- Vakumlu Tüp İğnesi
- Yeşil enjektör 5 ml'lik
- Cam tüp
- Balon joje: İnterlab, 100-1000 ml
- Cam pipet: Interlab, 1 ml, 5 ml
- Mikropipet: Eppendorf Research
- Beher: İnterlab, 50 ml
- Mezür: İnterlab, 250 ml
- Huni: İnterlab
- Ependorf tüp: 1,5 ml
- İnsülin enjektörü: Hayat 1 ml
- Viyal : 0.5 ml
- Rutin laboratuvar araç gereç ile cam malzemeler

2.1.5. Mobil Faz

Mobil fazda kullanılan şişelere 850 ml deiyonize su konuldu, üzerine 150 ml asetonitril ilave edilerek karıştırıldı ve 5 ml trietilamin eklendi. Ortofosforik asitle pH 2,5'a ayarlandı ve süzüldü. Degazda 15 dk bekletilerek hava kabarcıklarının oluşması engellendi. Hazırlanan mobil faz cihaza yerleştirildi

2.2. Yöntem

Çalışmanın kan alma ve plazmalarının ayrılması 01.06.2010 – 06.06.2010 tarihleri arasında Karaköy Tarım İşletmesinde, özütleme ve ölçümler Düzen Laboratuvarlar Grubunda 05.08.2010- 15.10.2010 tarihleri arasında gerçekleştirildi.

2.2.1. Deney Hayvanları Bakım ve Beslenmesi

Çalışma Karaköy Tarım İşletmesinde bulunan Jersey ırkı, dişi, 10 adet 46-50 günlük (ortalama 40-45 kg) buzağılarda gerçekleştirildi.

Hayvanlar 15 gün öncesi ayrı ortama alınarak herhangi bir ilaç uygulaması engellendi. Yem olarak buzağı büyütme yemi, su, kuru ot serbestçe verildi. Günde 2 defa 3 litre süt ile beslenmelerine devam edildi.

2.2.2. Hayvanların Gruplandırılması

Çalışma sağlıklı hayvanlarda yapıldı ve hayvanlar kontrol altında tutuldu. Hayvanlar her birinde 5 hayvan bulunan iki gruba (Grup 1 ve Grup 2) ayrıldı. Grup 1 Referans ilaç grubunu, Grup 2 Test ilaç grubunu oluşturdu. Hayvanlar ilaç uygulamalarından bir gün önce doz ayarlamasının dikkatli olarak belirlenebilmesi için tartıldı.

Çizelge 2.2.2.1. Kan alınan hayvanlar ve kulak numaraları.

GRUP 1 Hayvan Kulak No	GRUP 2 Hayvan Kulak No
TR551430172	TR551430177
TR551430173	TR551430178
TR551430174	TR551430180
TR551430175	TR55143082
TR551430176	TR551430183

2.2.3. İlaçların Verilmesi ve Doz

Grup 1'e Referans İlaç, Grup 2'ye Test İlaç kas içi (m.semitendinosus ile m.semimembranosus) yolla uygulandı. Tüm uygulamalarda doz 2,5 mg/kg c.a. olarak hesaplandı.

2.2.4. Kan Numunelerinin Toplanması

Hayvanlardan uygulama öncesi (0.0 dk), ilaç uygulamalarını takiben 0.25 saatten başlamak üzere 0.5., 1., 2., 4., 8., 12., 18., 24. ve 36. saatlerde *v.jugularis*'ten vakumlu heparinli tüplere doğrudan her seferinde 8- 10 ml kan alındı.

Kan numuneleri alındıktan sonra 60 dk içinde 3000 devirde 10 dk santrifüj edilerek plazmaları ayrıldı. Plazmalar, ilaç analizleri yapılana kadar -20°C' de muhafaza edildi. Analizler 2 ay içinde gerçekleştirildi.

2.2.5. Plazmada İlaç Analizi

Plazmada enrofloksasin analizlerinde özütleme ve ölçüm Düzen Laboratuvarlar Grubun'da YBSK cihazı ile gerçekleştirildi.

2.2.5.1. Plazmada Enrofloksasin Yoğunluklarının Ölçülmesi

Plazmadan enrofloksasin özütlenmesi ve ölçülmesinde Anadon ve ark. (1995) tarafından kullanılan metot esas alındı.

Buna göre ependorf tüplere 200 µl plazma alındı. Üzerine 300 µl asetonitril ilave edildi. Tüplerin ağzı kapatılıp vorteksle hafifçe karıştırıldı (2 dk). Sonra 2500 devirde 10 dk santrifüj edildi. Üstteki asetonitril kısmı insülin enjektörü yardımı ile şişelere alındı. Üzerine 300 µl deiyonize su alınarak, hafif bir şekilde vorteksle karıştırıldı (0,5 dk). YBSK'ya şişeler uygulandı. Otomatik örnekleyici okuma işlemini 280 nm dalga boyunda ve bu özütten 20 µl kullanacak şekilde ayarlandı. 12 dk cihaza uygulandı. Mobil fazın akış hızı 1ml/dk, kolon sıcaklığı 30 °C olarak ayarlandı.

2.2.5.2. Standartların Çıkış Zamanlarının Belirlenmesi

Enrofloksasin çalışma standartı 1 ve 2 cihaza enjekte edilerek çıkış zamanları (dk olarak) belirlendi.

2.2.5.3. Duyarlılık Limiti ve Geriye Kazancın Belirlenmesi

Standart eğrinin çizilmesi ve geriye kazanç testlerinin yapılması için, çalışma standart çözeltisi seyreltmeleri hazırlandı. Çalışma standart seyreltmelerinin her birinden YBSK'ya 20 µl enjekte edildi. Buradan alınan sonuçlara göre standart eğri çizildi.

İlaç içermeyen temiz plazmaya, çalışma standart çözeltisinden eklendi. Numune analizlerinde olduğu gibi aynı özütleme işlemleri burada da gerçekleştirildi. Özütlerden YBSK'ya 20 µl enjekte edildi. Buradan alınan sonuçlara göre standart eğri çizildi ve geriye kazanç hesaplandı.

2.2.6. Farmakokinetik Hesaplamalar

Plazma ilaç yoğunluğu dağılıma dönemi hız sabitesi (α), emilme hız sabitesi (k_a), α - dönemi yarı ömrü ($t_{1/2\alpha}$), plazma ilaç yoğunluğu atılma dönemi hız sabitesi (β), atılma dönemi yarı ömrü ($t_{1/2\beta}$), plazma ilaç yoğunluk- zaman eğrisi altındaki kalan alan (EAA), ilacın % 63,2'nin atılması için geçen süre (ortalama kalış süresi, OKS), plazma ilaç yoğunluğunun doruk değere ulaşma süresi (t_{dorum}) ve plazma doruk ilaç yoğunluğu (Y_{dorum}) hesaplandı. t_{dorum} ve Y_{dorum} plazma ilaç yoğunluğu eğrisinden, diğerleri Shumaker (1986) ve Wagner (1979) tarafından bildirilen eşitlikleri esas alan Pharmacokinetic Calculation (PKCALC) programı ile gerçekleştirildi.

2.2.7. İstatistiksel Hesaplamalar

İstatistiksel hesaplamalar için "SPSS 11.0 for Windows" istatistik paket programından yararlanıldı. Veriler, aritmetik ortalama \pm standart sapma şeklinde ifade edildi. Farmakokinetik veriler için Tek Yönlü Varyans Analizi (ANOVA) uygulandı ve gruplar arasındaki farklılıklar Mann-Whitney U testi ile değerlendirildi.

2.2.8. Biyoşdeğerlik Parametreleri

Biyoşdeğerlik çalışmaları için, EAA, Y_{dorum} ve t_{dorum} dikkate alındı; bu ölçütlerle, ilaçlar arasındaki biyoşdeğerlik durumu değerlendirildi (Hantash ve ark., 2008). EAA, Y_{dorum} ve t_{dorum} değerlerinin normal dağıldığı kabul edilerek dönüştürülmemiş verilere varyans analizi ANOVA uygulanır. Alternatif olarak EAA ve Y_{dorum} değerlerinin log-normal dağılım gösterdiği kabul edilerek log-dönüştürülmüş verilere de ANOVA uygulanabilir (Resmi Gazete, 1994).

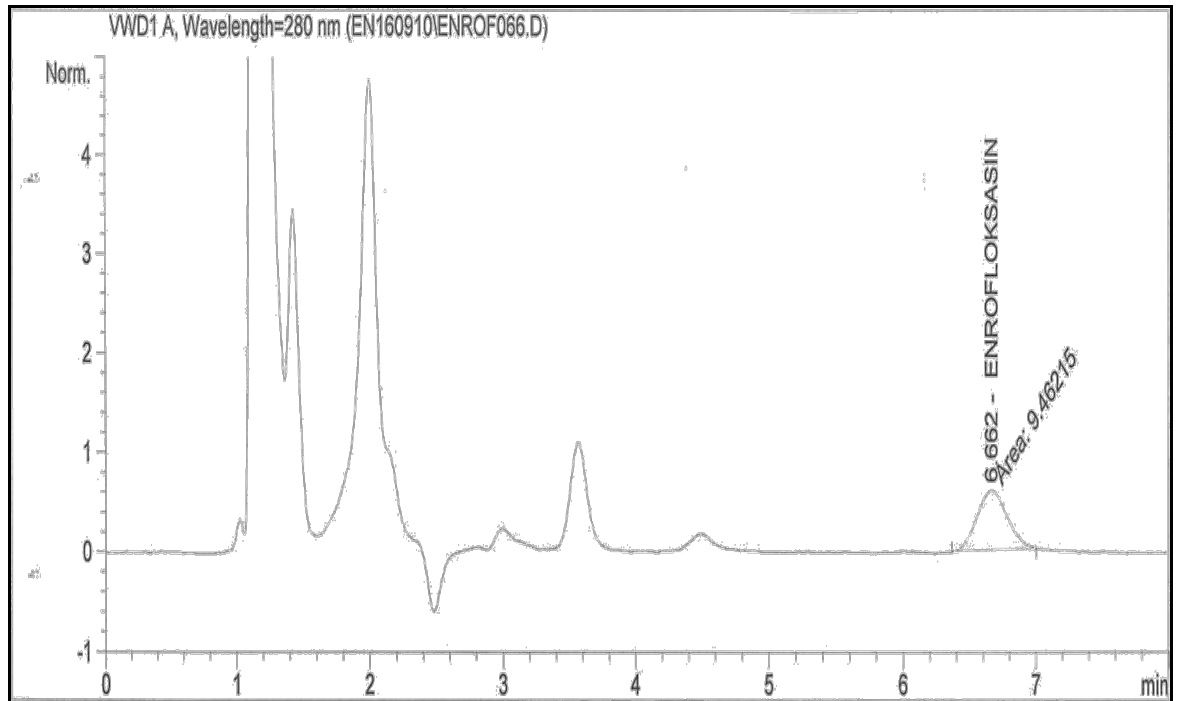
3. BULGULAR

3.1. Yöntemin Duyarlılığı Tekrarlanabilirliği ve Geriye Kazanç

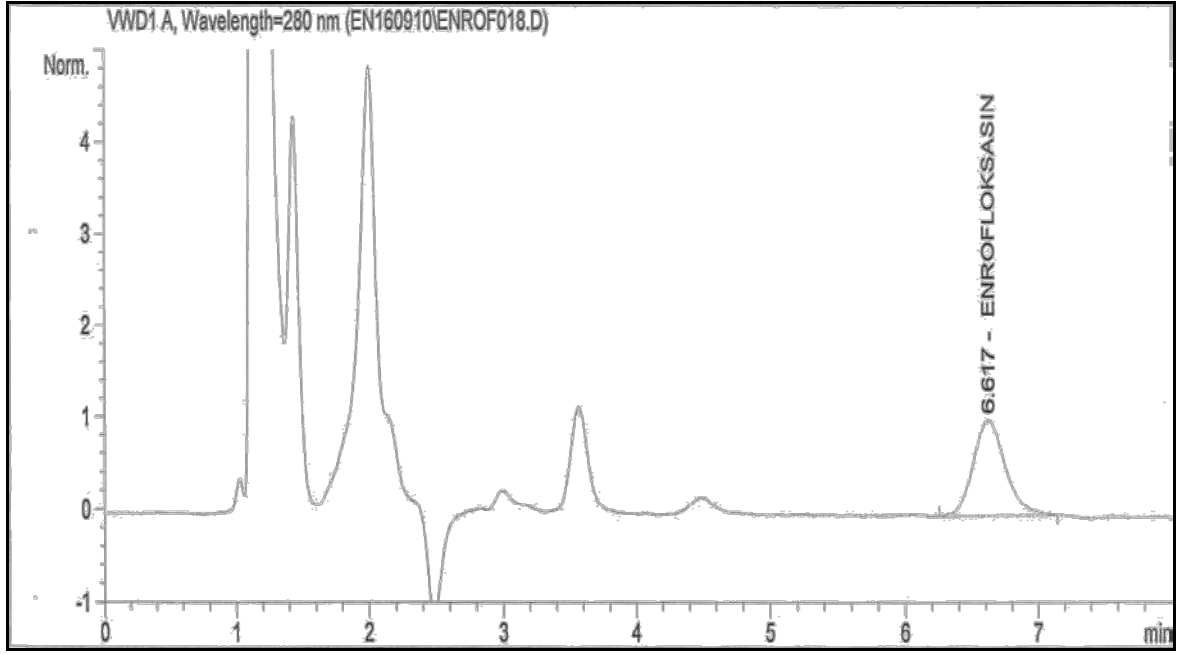
3.1.1. Enrofloksasin'in YBSK'de Çıkış Zamanı

Enrofloksasin etkin maddesi belli yoğunluklarda (0,25-5,0 µg/ml) hazırlanıp, otomatik örnekleyciye yerleştirildi; otomatik örnekleyci enrofloksasinin bu seyreltmelerinden 20 µl kullandı; çıkış zamanı 6.61-6.66 dk olarak belirlendi (Şekil 3.1.1.1, Şekil 3.1.1.2).

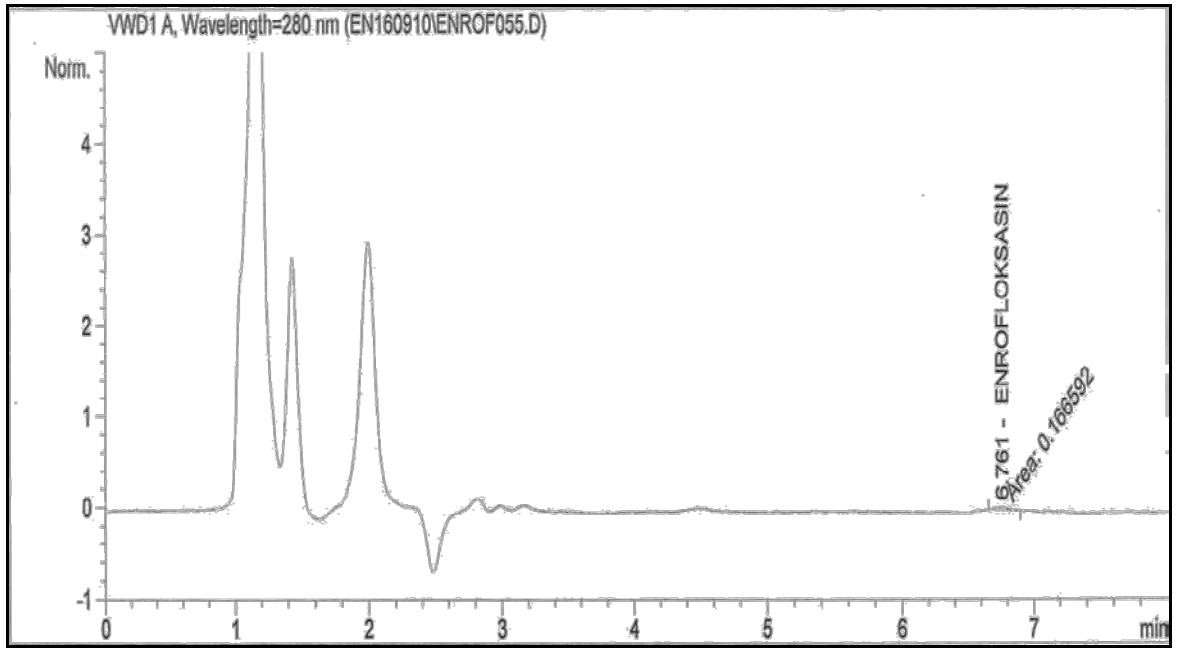
İlaç verilmeden önce hayvanlardan alınan temiz kandan ayrılan plazmalardan hazırlanan özütlerde YBSK'ya uygulandı ve kromotogramı alındı. Enrofloksasinin pik verdiği zamanlarda başka herhangi bir pik oluşmadığı görüldü (Şekil 3.1.1.3).



Şekil 3.1.1.1. Enrofloksasin etkin maddesinin kromotogramı (0,5 µg/ml çözeltiden 20 µl).



Şekil 3.1.1.2. Enrofloksasin etkin maddesinin kromotogramı (1 µg/ml çözeltiden 20 µl).

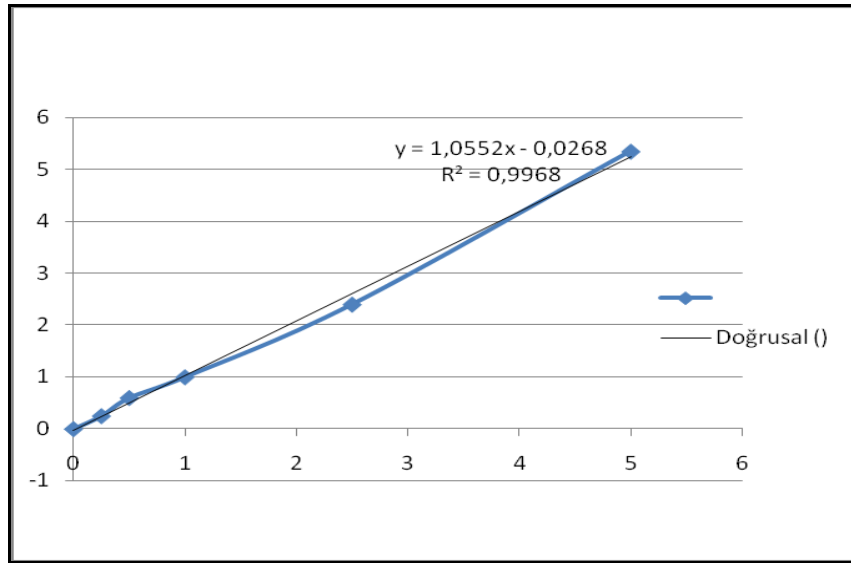


Şekil 3.1.1.3. İlaç içermeyen temiz plazma kromotogramı.

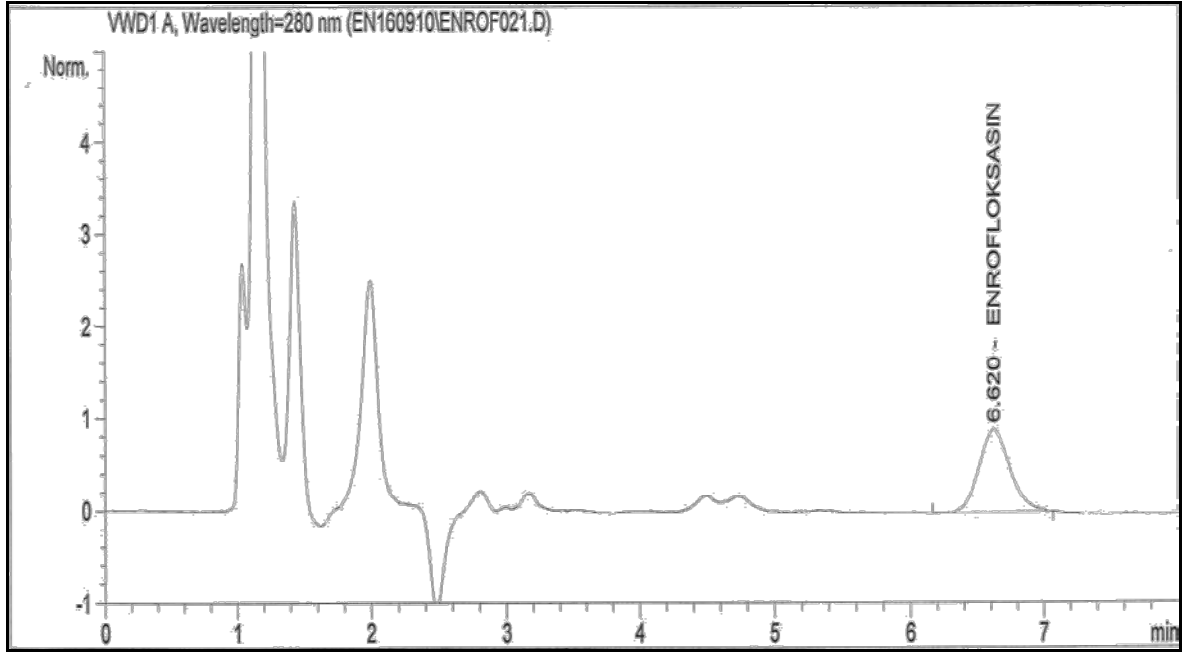
3.1.2. Standart Eğri ve Geriye Kazanç Denemeleri

0,25-5 µg/ml çözeltilerden YBSK'ya enjekte edilip, verdiği pik ve alanları yardımıyla doğrusal eğriler çizildi; elde edilen eğrilerin denklemleri hesaplandı. İlaç içermeyen temiz plazmaya dışarıdan 0,25-5 µg/ml yoğunluğundaki çözeltilerden katılarak özütleme işlemi yapıldı ve otomatik örnekleyiciye yerleştirildi. Otomatik örnekleyici bundan 20 µl kullandı, elde edilen pik alanları (Şekil 3.1.2.1) yardımı ile doğrusal eğriler çizildi; elde edilen eğrilerin denklemleri hesaplandı. Bu eğrilerden yararlanılarak geriye kazanç %80-96 olarak bulundu.

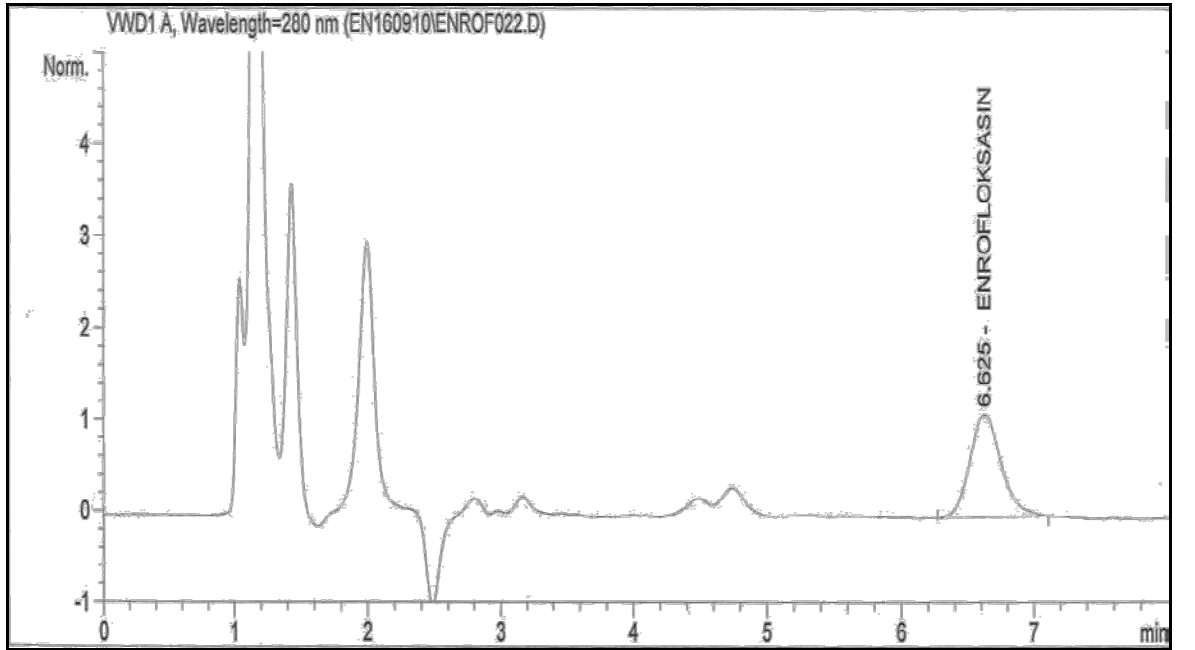
Daha sonra, çalışma numunelerinin ölçümüne geçildi. Çalışma numunelerinin plazmalarında özütleme işlemi yapıldı ve otomatik örnekleyiciye yerleştirildi. Cihaz, bu özütlerden 20 µl kullandı. Çalışmaya ilişkin alınan kromatografik görüntülerden Referans İlacın verildiği Grup 1'deki 173 kulak numaralı hayvana ait pik ve alanları örnek olarak verildi (Şekil 3.1.2.2, Şekil 3.1.2.3, Şekil 3.1.2.4).



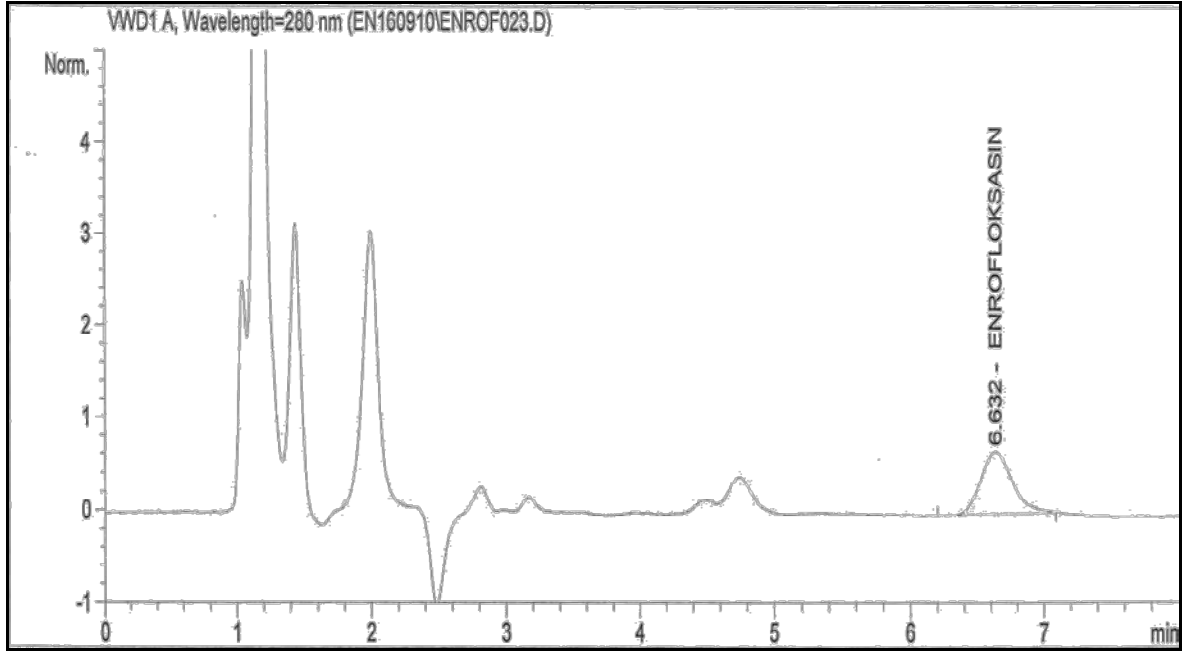
Şekil 3.1.2.1. Belirli yoğunluktaki Enrofloksasinin YBSK'deki pik alanlarından yararlanılarak hazırlanan standart eğri.



Şekil 3.1.2.2. 173 kulak numaralı hayvana ait 0,5. saat kromotogramı.



Şekil 3.1.2.3. 173 kulak numaralı hayvana ait 1. saat kromotogramı.



Şekil 3.1.1.4. 173 kulak numaralı hayvana ait 2. saat kromotogramı.

3.1.3. Yöntemin Duyarlılığı

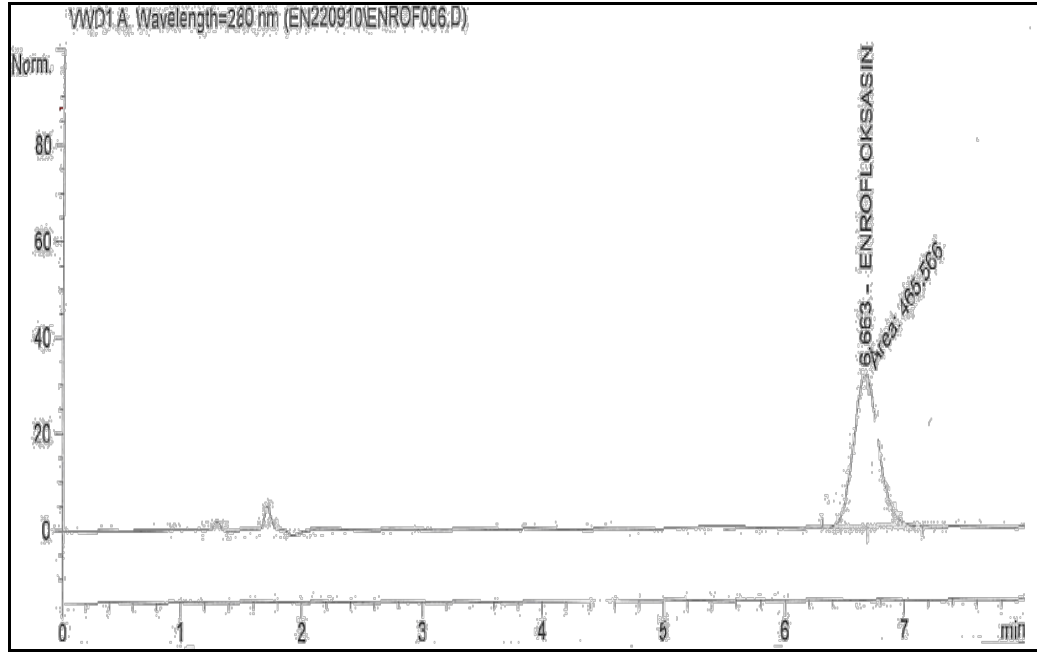
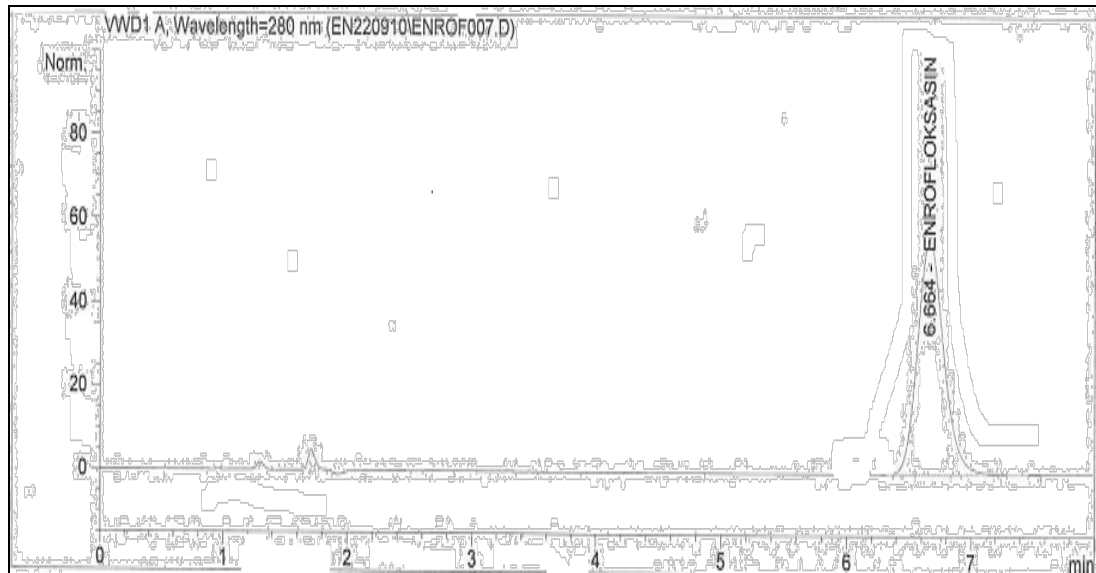
Enrofloksasin çalışma standartları ile yapılan denemeler sonucunda yöntemle plazmada 0.05 µg/ml enrofloksasinin ölçülebildiği anlaşıldı.

3.2. İlaç Müstahzarlarının Etkin Madde Miktarları

Referans ve Test İlaç 0,0001 mg/ml yoğunlukta hazırlanarak, otomatik örnekleyiciye yerleştirildi. Her bir ilaçtan cihaz 20 µl kullandı. Kromotogramları alındı ve etkin madde miktarları belirlendi (Şekil 3.2.1; Şekil 3.2.2). Bu çalışmada kullanılan Referans ve Test İlaçlarının kontrol amacıyla yapılan ölçümlerinde etkin madde miktarları; Referans İlaç için 5,35 µg/ml, Test İlaç için 9,56 µg/ml olarak ölçüldü (Çizelge 3.2.1). Buna göre, birim hacimdeki etkin madde miktarları normal sınırları içinde olduğu belirlendi.

Çizelge 3.2.1. Referans ve Test İlaçlarının etkin madde miktarları.

İlaçlar	Etkin madde miktarı, mg/ml	
	Formülasyondaki bildirim, mg/ml	Ölçülen miktar, mg/ml
Referans ilaç	50	53,6
Test ilaç	100	95,6

**Şekil 3.2.1.** Referans ilaç kromatogramı.**Şekil 3.2.2.** Test ilaç kromatogramı.

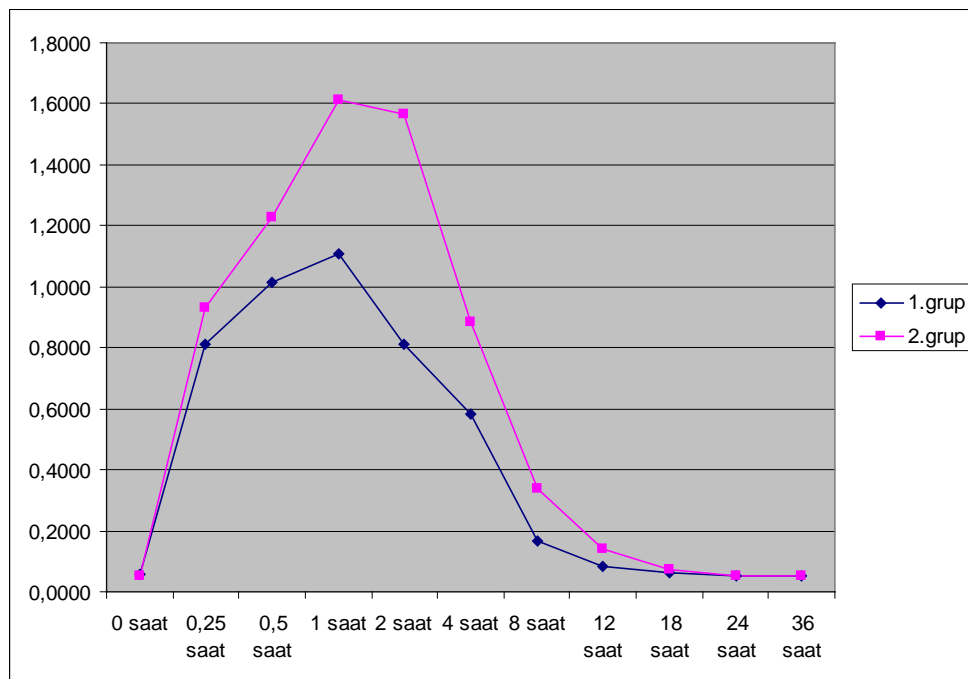
3.3. Plazma İlaç Yoğunlukları

Grup 1 ve Grup 2'deki hayvanlara Referans ve Test İlaçlarının uygulanmasını takiben plazma numunelerinde ölçülen enrofloksasin yoğunlukları Çizelge 3.3.1'de, plazma ilaç yoğunluğu-zaman eğrisi Şekil 3.3.1' de verildi.

Referans ve Test İlaçlarının uygulanmasını takiben 0,8-1,2. saatlerde plazma enrofloksasin yoğunluğunun doruk değerine (1,116-1,664 $\mu\text{g/ml}$) çıktığı; yaklaşık 4 saat süreyle plazma ilaç yoğunluğunun $\geq 0,5$ $\mu\text{g/ml}$ 'de kaldığı; 36 saatte de 0,04 $\mu\text{g/ml}$ plazma ilaç yoğunluğu olduğu görülmektedir.

Çizelge 3.3.1. Enrofloksasinin zamana göre plazma ilaç yoğunlukları.

Zaman(saat)	Enrofloksasin ($\mu\text{g/ml}$)	
	Referans İlaç – Grup 1	Test İlaç – Grup 2
0,25	0,80 \pm 0,24	0,92 \pm 0,28
0,5	1,01 \pm 0,22	1,22 \pm 0,37
1	1,10 \pm 0,22	1,614 \pm 0,43
2	0,80 \pm 0,21	1,56 \pm 0,28
4	0,58 \pm 0,26	0,93 \pm 0,42
8	0,16 \pm 0,09	0,33 \pm 0,11
12	0,08 \pm 0,04	0,14 \pm 0,04
18	0,05 \pm 0,01	0,07 \pm 0,02
24	0,04 \pm 0,00	0,05 \pm 0,01
36	0,04 \pm 0,00	0,04 \pm 0,00



Şekil 3.3.1. Referans ve Test İlaçlarının kas içi 2,5 mg/kg uygulanması sonucu çizilen enrofloksasinin plazma ilaç yoğunluğu-zaman eğrileri.

3.4. Farmakokinetik Değişkenler

Farmakokinetik veriler için ANOVA uygulandı ve gruplar arasındaki farklılıklar Mann-Whitney U Testi ile bakıldı.

Referans ve Test İlaçın Grup 1 ve Grup 2'ye kas içi verilmesini takiben farmakokinetik değişkenleri Çizelge 3.4.1'de verilmiştir.

Çizelge 3.4.1. Referans ve Test İlaçlarının farmakokinetik değişkenleri (aritmetik ortalama \pm standart hata, en alt- en üst değerleri).

Değişkenler	Referans ilaç	Test ilaç
EAA ($\mu\text{g. saat/L}$)	6,54 \pm 0,69 ^a (4,87-8,63)	10.33 \pm 0,89 ^b (7,23-12,7)
OKS (saat)	17,05 \pm 2,23 (9,05-21,45)	24,71 \pm 14,19 (9,91-81,47)
α (saat ⁻¹)	0,35 \pm 0,05 (0,24-0,53)	0,32 \pm 0,04 (0,21-0,46)
β (saat ⁻¹)	0,03 \pm 0,00 (0,02-0,07)	0,13 \pm 0,88 (0,04-0,49)
ka (saat ⁻¹)	4,014 \pm 0,66 ^a (2,31-5,38)	1,80 \pm 0,23 ^b (1,27-2,61)
$t_{1/2\alpha}$ (saat)	2,09 \pm 0,27(1,30-2,88)	2,29 \pm 0,34 (1,48-3,23)
$t_{1/2\beta}$ (saat)	21.25 \pm 3,80 (8,91-31,48)	30,83 \pm 15b,15 (14,0-91,4)
$t_{1/2a}$ (saat)	0,01 \pm 0,03 ^a (0,11-0,29)	0,408 \pm 0,04 ^b (0,26-0,54)
tdoruk (saat)	1,00 \pm 0,27 (0,5-2)	1,20 \pm 0,20 (1,00-2,00)
Ydoruk ($\mu\text{g/ml}$)	1,12 \pm 0,10 (0,85-1,44)	1,66 \pm 0,154 (1,91-1,96)

a,b: Aynı satırda farklı harfleri içeren gruplar arasındaki fark önemlidir ($p<0,05$).

ka: Emilmeli verilmelerde birinci derece emilme hız sabitesi.

α : Plazma ilaç yoğunluğu dağılıma dönemi hız sabitesi.

β : Plazma ilaç yoğunluğu atılma dönemi hız sabitesi.

$t_{1/2a}$: Ağızdan verilme durumunda sindirim kanalından emilme yarı ömrü.

$t_{1/2\alpha}$: Dağılıma dönemi yarı ömrü.

3.5. Biyoeşdeğerliğin Değerlendirilmesi

Parametrelerin simetrik dağılımını sağlamak ve değişiklikleri dengede tutmak amacıyla logaritmik dönüşüm kullanıldı. Bu amaçla çalışmada Referans ve Test İlaçlarının biyoeşdeğerlikleri EAA ve Y_{doruk} ölçütlerinin logaritmaları alındı ve değerlendirildi.

Referans ve Test İlaçlarında EAA ve Y_{doruk} değerlerinin logaritmik dönüşüm sonucunda elde edilen değerlerin karşılaştırılması sonucu EAA değerinin (1,24) kabul edilebilir sınır içerisinde olduğu, Y_{doruk} değerinin (0,48) ise bu sınırlar içerisinde olmadığı görüldü (Çizelge 3.5.1).

Çizelge 3.5.1. Referans ve Test İlaçlarının logaritmik dönüşüm sonucu bazı farmakokinetik değişkenleri (aritmetik ortalama \pm standart hata, en alt- en üst değerleri) ve Test ilacın biyoeşdeğerliği.

Değişkenler	Referans İlaç	Test İlaç	$\mu T/ \mu R$
EAA ($\mu\text{g. saat/L}$)	$0,80 \pm 0,45^a(0,69-0,94)$	$1,00 \pm 0,40^b(0,86-1,11)$	1,24
Y_{doruk} ($\mu\text{g/ml}$)	$0,43 \pm 0,03 (-0,7-0,16)$	$0,21 \pm 0,43 (0,08-0,29)$	0,48
Kabul Edilebilir Limit			0,80-1,25

$\mu T/ \mu R$: Test İlacın Biyoeşdeğerliği.

4. TARTIŞMA

Aynı etkin maddeyi içeren farmakolojik ve klinik etkileri aynı olan, benzer plazma ilaç yoğunluğu-zaman eğrisi gösteren ilaç formülasyonlarının değerlendirilmesinde biyoeşdeğerlik testleri önemli rol oynar (Toutain ve Koritz, 1997). İlaçların ruhsatlandırılması için gerekli belgelerin içinde biyoyararlanım/farmakokinetik ve farmakodinamik çalışmalarla ilgili belgelerin bulunması bir gerekliliktir. Özellikle ilacı ilk keşfeden veya ilk üreten firmanın ilacı (referans ilaç) ile jenerik olarak üretilen ilacın (benzer formülasyonda diğer ilaç) biyoeşdeğer olduğunun kanıtlanması, bu ilacın klinik açıdan diğerinin yerine kullanılabileceğini (muadil ilaç) gösteren en önemli unsurdur (Öner, 2003). Dolayısıyla, ilaçların ruhsatlandırılmasında, kalite, etkinlik ve güvenlik kadar, bunların birbiri yerine kullanılabilir olması, özellikle hekimin serbest hareket edebilmesi ve sağaltımın maliyeti yönünden de son derece önemli olmaktadır. İnsanlarda olduğu gibi bir sağlık veya sigorta sisteminin hayvanlar için de geliştirilmesi (ülkemizde başlamıştır) eşdeğer ilaç uygulamasının yapılmasını ve ödemelerin de buna göre düzenlenmesini beraberinde getirecektir (Tarım Sigortası Kanunu, 5363).

Veteriner hekimliğinde tedavide kullanılan ilaç müstahzarları için biyoeşdeğerlik testlerinin uygulanmasının faydaları tüketici (hasta), hekim, üretici firma ve halk sağlığı yönünden değerlendirilir (Traş ve ark., 2002). Aynı etkin maddeyi içeren, aynı kullanım alanı, aynı tür ve aynı yoldan kullanım için sunulmuş değişik firmalara ait çok sayıda ilaç müstahzarı bulunmaktadır. Hekimin ya da tüketicinin hekimin reçetesi doğrultusunda kullandığı ilaçtan beklenen etkinin tam olarak sağlanmaması durumunda tüketicinin ve hekimin hakkı korunmamış olur. Biyoeşdeğerlik çalışmaları ilaç firmalarını kaliteli ürün üretmeye teşvik eder. Hayvansal gıdalardaki kalıntı problemlerinin azaltılması ve gıda güvenliği yönünden de biyoeşdeğerlik çalışmaları önemlidir. Ülkemizde üretilen veteriner müstahzarların etkinliğini, güvenilirliğini ve kalitesini artırmak, AB'ye uyum için sürdürülen çalışmalara katkıda bulunmak amacı ile veteriner hekimlikte kullanılan ilaçlarda biyoeşdeğerlik çalışmalarına gereken önem verilmelidir (Traş ve ark., 2002).

Bir ilacın klinik açıdan diğerinin yerine kullanılabileceğini gösteren en önemli unsur biyoeşdeğer olduğunun kanıtlanmasıdır. ABD, AB ülkelerinde, beşeri ilaçlar yanında, veteriner hekimlikte kullanılan ilaçlarda da biyoeşdeğerlik çalışmalarını zorunlu kılmış ve rutin olarak biyoeşdeğerlik çalışmaları yapılmaktadır (Posniyak ve ark; 2001; Toutain ve Koritz, 1997; EMEA, 2001a). Fakat, ülkemizde veteriner hekimliğinde biyoeşdeğerlikle ilgili düzenlemeler ve çalışmalar yoktur. Yeni çıkan 5996 sayılı Veteriner Hizmetleri; Bitki Sağlığı,

Gıda ve Yem Kanuna ve buna dayanılarak hazırlanacak olan mevzuatta bu hususta yer almalıdır (Resmi Gazete; 2010).

Enrofloksasinin çok sayıdaki müstahzarları sığırlarda bakteriyel hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır (Sumano ve ark., 2001). Kullanılan bu müstahzarların biyoeşdeğer olması klinik cevabı en üst düzeye çıkarmak ve bakteriyel direnç oluşumunu en aza indirmek için gereklidir. Enrofloksasinin biyoeşdeğer olmayan müstahzarları, bakteriyel direnci geliştirir ve başarılı bir tedavi sağlayamaz (Sumano ve ark., 2001).

Türkiye'de üretilen ve ithal edilen, enrofloksasin içeren veteriner müstahzarlarının 33'ü (Çizelge 1.2.6.1) sığırlarda ve buzağılarda parenteral kullanıma uygun çözelti halindedir (KKGGM, 2001).

Türkiye'de sığırlarda ve buzağılarda enrofloksasinin farmokinetiği ile ilgili çalışmalar vardır; yalnız buzağılarda bu ilacın biyoeşdeğerliği ile ilgili herhangi çalışma mevcut değildir. Veteriner ilaçları ile ilgili pek çok farmakokinetik çalışmalar yapılmasına ve yayınlanmasına rağmen, az sayıda biyoeşdeğerlik çalışması mevcuttur. Veteriner hekimliğinde kullanılan bazı ilaçlara yönelik yapılan biyoeşdeğerlik çalışmalarında: sığırlarda ivermektin türevi iki farklı ilacın biyoeşdeğer olduğu, sığırlarda seftiofur sodyum içeren iki ilacın biyoeşdeğer olduğu, tavşanlarda üç farklı penisilin-dihidrostreptomisin kombinasyonu ilacın dihidrostreptomisin yönünden biyoeşdeğer olmalarına rağmen penisilin yönünden Y_{doruk} ve t_{doruk} değerleri bakımından biyoeşdeğer olmadığı, kanatlılarda ağızdan kullanılan dört farklı enrofloksasin türevi ilaçtan test edilen üç ilacın birbiriyle eşdeğer olmalarına rağmen referans müstahzar ile biyoeşdeğer olmadıkları bildirilmiştir (Traş ve ark., 2005). Posniyak ve ark. (2001) tavuklarda ağız yoluyla kullanılan iki farklı müstahzarın biyoeşdeğer olduğunu, El Korchi ve ark. (2001) domuzlarda kas içi yolla kullanılan iki farklı uzun etkili oksitetrasiklin müstahzarının biyoeşdeğer olduğunu, Lifschitz ve ark. (1999) domuz ve sığırlarda deri altı yolla kullanılan iki farklı ivermektin müstahzarının iki canlı türünde de biyoeşdeğer olduğunu, Huet ve ark. (1990) sığırlarda kas içi yolla kullanılan iki farklı müstahzarın biyoeşdeğer, Lavy ve ark. (1995) eşeklerde kas içi yolla kullanılan üç farklı amoksisilin müstahzarının biyoeşdeğer olduğunu bildirirken; Chong ve ark. (2002) tavşanlarda ağız yoluyla kullanılan iki farklı oksitetrasiklin müstahzarının biyoeşdeğer olmadıklarını, Rebuelto ve ark. (2005) köpeklerde kas içi yolla kullanılan iki farklı sefalekssin müstahzarının biyoeşdeğer olmadıklarını bildirmişlerdir.

İlaçlarda kalite, etkinlik ve güvenlik kadar, bunların birbiri yerine kullanılabilir olması, özellikle sağaltımın maliyeti ve ekonomi yönünden son derece önemlidir. İki ilacın terapötik eşdeğerliğinin klinik denemelerle gösterilmesi pratik bakımdan zorluk gösterir (Kayaalp, 2008). Dünya Sağlık Örgütü'nün 1996 yılında (WHO, 1996) yayınlanan teknik raporuna göre, ilaçların birbiri yerine kullanılabilir olması için terapötik eşdeğerliğinin sağlanmış olması gerektiği belirtilmiştir. Biyoeşdeğerlik çalışmaları, sonucunu etkileyebilen biyolojik, analitik ve istatistiksel faktörleri göz önünde bulundurularak, dikkatli bir şekilde tasarlanmalıdır.

Enrofloksasinin, birçok müstahzarının sahada buzağılarda geniş kullanım alanı bulması dolayısıyla biyoeşdeğerliğinin incelenmesine ilişkin bu çalışma, biyoeşdeğerlik çalışmalarına katkı sağlaması yönüyle özgün nitelik taşımaktadır ve elde edilecek sonuçlardan hareketle bu alandaki araştırma ve geliştirme çalışmalarında ışık tutması amaçlanmıştır.

İnvivo biyoeşdeğerlik çalışmalarında vücut sıvılarında miktar tayininde geçerli ve hassas yöntemlerinin kullanılması güvenilirliği ve kaliteyi etkileyen önemli faktörlerdir (Toutain ve Koritz, 1997). Bu amaçla YBSK sık tercih edilen, duyarlı, güvenilir ve tekrarlanabilir yöntemdir. Bu çalışmada da enrofloksasin ölçümlerinde YBSK kullanılmıştır.

Biyoeşdeğerliğin değerlendirilmesinde genel bir kural olarak karşılaştırılan ilaçların EAA ve Y_{doruk} değerlerinin %90 güven aralığında ve %80-125 sınırlarında olması gerekir. Y_{doruk} değeri örnekleme zamanına bağlı olarak geniş değişkenlik gösterdiğinden, güvenlik aralığı % 70-143 sınırları arasında kabul edilebilir (Traş ve Yazar, 2002).

Yöntemin duyarlılığı plazmada enrofloksasin için 0,05 µg/ml olarak tespit edildi. Bu yönden yöntemin duyarlılığı, Anadon ve ark. (1995)'ninkine göre daha az (0,003 µg/ml, YBSK); Posyniak ve ark. (2001)'ninkine benzer (0,02 µg/ml, YBSK), Şahan ve Kaya (2006)'ninkinden daha yüksektir (0,1 µg/ml enrofloksain; agar jel disk diffüzyon yöntemi). Analiz yönteminin duyarlılıkla ilgili farklılıkları, numunelerin analiz metodlarına ve YBSK cihazının özellikleri ve çalışma şartlarına bağlanabilir. Bu çalışmada, plazmada enrofloksasinin en küçük etkili yoğunluğundan (<0,5 µg/ml) çok küçük değerlerin (50 katı) ölçülebilmesi sebebiyle yöntemin duyarlılık sınırı son derece yeterli olarak görülmüştür.

Çalışmada geriye kazanç oranı %80–96 bulundu. Bu değerler Posniyak ve Ark. (2001), Anadon ve ark. (1995)'nin plazmada, Sumana ve ark. (2001)'nin serumda bulunduğu değerlere (sıra ile %>90, %87, %92–97) benzer bulunmuştur. Literatür verileri ile karşılaştırıldığında,

çalışmada bulunan geriye kazanç oranlarının çalışma sonuçlarını güvenli kılacak şekilde uygun olduğu sonucuna varılmıştır.

Bu çalışmada, enrofloksasinin kas içi uygulanmasını takiben ilaç yoğunluğu-zaman eğrisinin 2-bölmeli dışarıya açık modele uygunluk gösterdiği bulundu; farmakokinetik hesaplamalar buna göre yapıldı.

İlacın verilmesini ve emilmesini takiben vücutta hızla dağıldığı anlaşılmıştır. Çalışmada enrofloksasinin dağılma yarı ömrü ($t_{1/2\alpha}$), Referans İlaç için $2,09\pm 0,27$ saat, Test İlaç için $2,29\pm 0,34$ saat bulundu. $t_{1/2\alpha}$, Parlar ve Kaya (2005)'nin bulunduğu değerlerden [Grup 1 (Dİ grup) için $0,08\pm 0,00$ saat, içme suyuna katılarak verilen Referans İlaç için $0,14\pm 0,07$ saat, Test İlaç için $0,09\pm 0,01$ saat, diğer Test İlaç için $0,14\pm 0,06$ saat; agar jel disk difüzyon yöntemi] uzun, Anadon ve ark. (1995)'nin bulunduğu değerlerden (Dİ grup $0,07\pm 0,001$ saat; ağızdan kursak içi $1,43\pm 0,10$ saat; YBSK) uzun olduğu, Elmas ve ark. (2000)'in ve Elmas ve ark. (2001)'in bulunduğu değerlere (Grup 1 ağızdan $2,37\pm 0,25$; Grup 2 ağızdan $1,48\pm 0,47$; Grup 1 Dİ $0,62\pm 0,13$; YBSK, Grup 2 kas içi $1,73\pm 0,43$; YBSK) benzer, Kaya ve ark. (1996)'nin bulunduğu değerlere [Grup 1 (Dİ grup) için $0,237\pm 0,029$ saat, ağızdan kursak içi verilen Test İlaç için $2,091\pm 0,705$ saat, diğer Test İlaç için $3,97\pm 1,402$ saat; agar jel disk difüzyon yöntemi] benzer olduğu görülmüştür.

İlacın dağılım döneminin kısa sürdüğünü, dağılım dönemi hız sabitesi (κ) de göstermiştir. Bu çalışmada α değeri, Referans ilaç için $0,35\pm 0,05$ saat⁻¹, Test ilaç için $0,32\pm 0,04$ saat⁻¹ bulunmuştur. İki grup karşılaştırıldığında önemli bir fark ($p>0,05$) görülmemiştir.

Enrofloksasinin atılma dönemi yarı ömrü ($t_{1/2\beta}$), Referans ilaç için $21,25\pm 3,80$ saat, Test ilaç için $30,83\pm 15,15$ saat olarak bulundu. Çalışmada elde edilen bulgular Anadon ve ark. (1990)'nin bulunduğu değerden (içme suyuna katılarak verilen enrofloksasin için 2-3,5 saat; agar jel disk difüzyon yöntemi), Anadon ve ark. (1995)'nin bulunduğu değerden (ağızdan kursak içi verilen grupta $14,23\pm 0,46$ saat, YBSK) Elmas ve ark. (2000)'in ve Elmas ve ark. (2001)'in bulunduğu değerlerden (sırasıyla Grup 1 ağızdan $9,26\pm 0,65$ saat; Grup 2 ağızdan $8,15\pm 0,18$ saat; YBSK; Grup 2 kas içi $4,70\pm 0,44$ saat; YBSK) uzun, Parlar ve Kaya (2005)'nin bulunduğu değerlere [içme suyuna katılarak verilen enrofloksasin Referans İlaç için $17,32\pm 1,69$ saat, Test İlaçlar için $5,33\pm 0,21$ saat; $34,65\pm 2,72$ saat; agar jel disk difüzyon yöntemi], Kaya ve ark. (1996)'nin bulunduğu değerlere [ağızdan kursak içi verilen Test İlaçlar için $14,82\pm 4,67$ saat; $26,38\pm 11,64$ saat; agar jel disk difüzyon yöntemi] benzer olduğu tespit edilmiştir.

Eğri altında kalan alan (EAA), Referans ilaç için $6,54 \pm 0,69$ $\mu\text{g.saat/L}$, Test ilaç için $10,33 \pm 0,89$ $\mu\text{g.saat/L}$ olarak bulundu. Çalışmada kas içi olarak verilen Referans ve Test ilaçlarının EAA'ı Posyniak ve ark. (2001)'nin ağızdan kursak içi ilaç uygulaması sonucu bulunduğu Referans ve Test ilaç değerlerinden (sırasıyla $18,653 \pm 1,846$ $\mu\text{g.saat/L}$; $17,934 \pm 1,636$ $\mu\text{g.saat/L}$, YBSK), Elmas ve ark. (2001)'in bulunduğu değerden (Grup 2 kas içi $19,07 \pm 02,43$ $\mu\text{g.saat/L}$; YBSK), Kaya ve ark. (1996)'nin bulunduğu değerlerden (ağızdan kursak içi verilen Test İlaçlar için $18,395 \pm 2,220$ $\mu\text{g.saat/L}$; $26,91 \pm 7,97$ $\mu\text{g.saat/L}$, agar jel disk difüzyon yöntemi), Parlar ve Kaya (2006)'nin bulunduğu değerden (Ağızdan içme suyuna katılarak ilaç verilen Referans İlaç için $30,7 \pm 4,8$ $\mu\text{g.saat/L}$, Test İlaçlar için $41,3 \pm 3,4$ $\mu\text{g.saat/L}$ ve $31,2 \pm 3,5$ $\mu\text{g.saat/L}$; agar jel disk difüzyon yöntemi) daha küçük olduğu tespit edilmiştir.

Enrofloksasinin plazmada doruk yoğunluğa ulaşma süresi (t_{doruk}), Referans ilaç için $1,00 \pm 0,27$ saat, Test ilaç için $1,20 \pm 0,20$ saat bulundu. Elmas ve ark. (2001)'in bulunduğu değerlerle (Grup 2 kas içi $1.09 \pm 0,28$ saat, YBSK) benzerlik gösterdiği anlaşılmıştır.

Enrofloksasinin doruk plazma değeri (Y_{doruk}), Referans ilaç için $1,12 \pm 0,10$ $\mu\text{g/ml}$, Test ilaç için $1,66 \pm 0,154$ $\mu\text{g/ml}$ bulundu. Çalışmada Referans ve Test ilaçları için Y_{doruk} , Posyniak ve ark. (2001)'nin Referans ve Test İlacı değerlerine (sırasıyla $0,92 \pm 1,105$ $\mu\text{g/ml}$; $0,98 \pm 0,099$ $\mu\text{g/ml}$, ağızdan kursak içi, YBSK), Anadon ve ark. (1990)'nin bulunduğu değere ($1,4$ $\mu\text{g/ml}$; ağızdan içme suyuna katılarak verilen enrofloksasin için, agar jel disk difüzyon yöntemi) benzer, Elmas ve ark. (2001)'in bulunduğu değerden (Grup 2 kas içi $3,25 \pm 0,29$ $\mu\text{g/ml}$, YBSK) daha küçük olduğu tespit edilmiştir.

Biyoeşdeğerlik çalışmalarında, ölçütlerin simetrik dağılımı sağlamak ve değişiklikleri dengede tutmak için logaritmik dönüşüm yapılması önerilmektedir (Toutain ve Koritiz, 1997). Bu sebeble, çalışmada ilaçların biyoeşdeğerliği değerlendirmek amacıyla EAA ve Y_{doruk} ölçütlerinin logaritmik dönüşümleri yapıldı. t_{doruk} ölçütü zamana bağlı bir parametre olduğu için logaritmik dönüşümü yapılmadı.

EAA ve Y_{doruk} için logaritmik dönüşüm yapılarak değerlendirildiğinde, Test İlacın EAA değerinin ($1,00 \pm 0,40$ $\mu\text{g.saat/L}$) Referans İlaç değerine ($0,80 \pm 0,45$ $\mu\text{g.saat/L}$) bölünmesiyle ($\mu\text{T}/\mu\text{R}$) elde edilen değer $1,24$ 'dür. Test İlacın Y_{doruk} değerinin ($0,21 \pm 0,43$ $\mu\text{g/ml}$) Referans İlaç değerine ($0,43 \pm 0,03$ $\mu\text{g/ml}$) bölünmesiyle ($\mu\text{T}/\mu\text{R}$) elde edilen değer $0,48$ 'dir.

Zamana bağılı bir parametre olduğu için logoritmik dönüşümü yapılmayan Test İlacın t_{doruk} değerinin ($1,20 \pm 0,20$ saat) Referans İlaç değerine bölünmesiyle ($1,00 \pm 0,27$ saat) ($\mu T / \mu R$) elde edilen değer 1.20 'dir.

Test İlacın biyoeşdeğerliği değerlendirildiğinde t_{doruk} değerinin ($\mu T / \mu R = 120$) kabul edilebilir sınır içerisinde olduğu (%80–125), test ilacın EAA değerine logoritmik dönüşüm uygulandığında ($\mu T / \mu R = 1,24$), kabul edilebilir sınır içerisinde olduğu (0.80-1.25) görülmektedir. Ancak Test İlacın Y_{doruk} değerinin ($\mu T / \mu R = 0,48$) kabul edilebilir sınırlara uymadığı görülmektedir. Bu sonuçlar Test İlacın Y_{doruk} yönünden biyoeşdeğer olmadığını, ancak Referans İlaçtan daha iyi emildiğini ve Referans İlacın yerine kullanabileceğini göstermiştir.

Literatür incelemelerinde, veteriner hekimliğinde kullanılan ilaçlar için az sayıda da olsa biyoeşdeğerlik çalışmaları yapıldığı görülmüştür. Altıntaş (2009) etçi piliçlerde ağızdan kullanılan bazı sülfonamid preparatlarının; Yılmaz (2006) sığırlarda kas içi yolla uygulanan enrofloksasin içeren iki müstahzarın; Kanıcı (2009) etçi piliçlerde ağızdan kullanılan bazı enrofloksasin müstahzarlarının; Brown ve ark. (2000) sığırlarda kas içi ve deri altı uygulanan seftiofur sodyumun; Hantash ve ark. (2008) tavuklarda ağızdan kursak içi uygulanan doksisisilin içeren iki müstahzarın; Clark ve ark. (2003) köpeklerde deri altı ve ağızdan uygulanan karprofenin; Lifschitz ve ark. (1999) domuz ve sığırlarda deri altı yoluyla uygulanan iki farklı ivermektin müstahzarın; El Korchi ve ark. (2001) domuzlarda kas içi yolla kullanılan iki farklı uzun etkili oksitetrasiklin müstahzarın; Lavy ve ark. (1995) eşeklerde kas içi yolla kullanılan üç farklı amoksisilin müstahzarın; Huet ve ark. (1990) sığırlarda kas içi yolla kullanılan iki farklı spiramisin müstahzarın biyoeşdeğer olduğunu bildirmişlerdir. Chong ve ark. (2002) tavşanlarda ağız yoluyla kullanılan iki farklı oksitetrasiklin müstahzarın; Rubelto ve ark. (2005) köpeklerde kas içi yolla kullanılan iki farklı sefaleksinin müstahzarın; Sarıca ve Liman (2008) etçi piliçlerde ağızdan kursak içi uygulanan iki farklı siprofloksasin müstahzarın biyoeşdeğer olmadığını; Sumana ve ark. (2001) kanatlılarda ağızdan kursak içi uygulanan dört farklı enrofloksasin müstahzarın üçünün biyoeşdeğer olduğunu, birinin ise olmadığını bildirmişlerdir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Enrofloksasin içeren Referans ve Test İlaç müstahzarlarının, incelenen farmakokinetik ölçütlerinin (EAA, Y_{doruk} , t_{doruk}) değerlendirilmesi sonucunda Test İlacın Y_{doruk} yönünden biyoeşdeğer olmadığını, ancak EAA ve t_{doruk} yönünden biyoeşdeğer olduğunu ve Test İlacın Referans İlaç yerine kullanılabileceği anlaşılmıştır. Test İlacın Y_{doruk} değerinin Referans İlaçtan yüksek olması ise ilacın emilim yerinden daha iyi emildiğini göstermiştir. Bu durumun deney grubundaki hayvanlardaki bireysel farklılıklar, analiz metotlarından ileri geldiği sanılmaktadır.

Orijinal ilaç (Patentli ilaç) dünyanın birçok ülkesinde güçlü yasalarla, patent ve veri koruma haklarıyla belli bir süre korunur ve bu süre içinde başka bir firmanın bu ilacın benzerini üretmesine izin verilmez. Eşdeğer ilaç, orijinal ilacın koruma süresi bittikten sonra üretilir, orijinal ilaçla aynı etkin maddeyi aynı miktarda içerir. Orijinal ilaçla, biyoeşdeğer olduğunun kanıtlanmış olması gerekir. Eşdeğer ilaçlar, orijinal ilaçlar kadar aynı etkinlik, kalite ve güvenilirlikte dir. Ancak eşdeğer ilaçlar referansı için yapılan laboratuvar ve klinik araştırmaları tekrarlamak zorunda olmadıkları için fiyatları daha düşüktür. Sağlık Bakanlığı, 2000 yılından bu yana eşdeğer ilaçlara ruhsat vermek için, biyoeşdeğerliğin kanıtlanmasını zorunlu tutmaktadır.

Enrofloksasin içeren müstahzarlar pahalı olduğundan, bilinçli kullanılması gerekmektedir. Jenerik ilaç kullanımıyla; sağlık bütçesinde tasarruf sağlanır, yeni ilaç arayışlarının devamını sağlar, ekonomik olmaları nedeniyle ilaca erişimi kolaylaştırır ve tedaviyi yaygınlaştırır. Ekonomik açıdan güçlü olan ülkelerde, orijinal ve jenerik ilaçlar arasında sağlıklı bir denge kurmak amacıyla jenerik ilaçlar desteklenerek, sağlık harcamalarında önemli tasarruflar sağlanmaktadır.

Beşeri ilaçlarda olduğu gibi veteriner ilaçlarda biyoeşdeğerlik çalışmalarının da istenmesi bir zorunluluk olmuştur. Veteriner ilaç piyasasındaki haksız rekabetin ortadan kaldırılması, seçeceği ilaç muadili hakkında fazla bilgi sahibi olmayan veteriner hekimin bilgilendirmesi için biyoeşdeğerlik konusunda gerekli kanuni düzenlemeler yapılmalı ve en kısa zamanda referans laboratuvarların oluşturulması gerekmektedir.

Bu çalışma ile veteriner hekimliği ilaçlarında biyoeşdeğerliğe yönelik çalışmaların teşvik edilmesi ve elde edilecek sonuçlardan hareketle bu alandaki araştırma ve geliştirme çalışmalarına ışık tutulması planlanmıştır. Buzağılarda enrofloksasinin biyoeşdeğerliği ile

ilgili çalışmaların kısıtlı oluşu, izlenecek yol, yöntem ve elde edilecek sonuçlar hakkındaki yorumları da kısıtlamaktadır. Bu sebeple, bu çalışma veteriner hekimliği alanında yapılacak biyoeşdeğerlik çalışmalarına kaynak teşkil edecektir.

ÖZET

Parenteral Olarak Kullanılan Bazı Enrofloksasin Müstahzarlarının Buzağılarda Biyoeşdeğerliğinin İncelenmesi

Bu çalışmada, buzağılarda parenteral olarak kullanılan iki farklı enrofloksasin müstahzarının biyoeşdeğerliği incelendi.

Çalışmada 15 gün boyunca kirlenici/ilaç kalıntısı içermeyen yemle beslenmiş, Jersey ırkı 46-50 günlük 10 dişi buzağı kullanıldı. Hayvanlar her birinde 5 hayvan bulunan iki gruba (Grup 1 ve Grup 2) ayrıldı. Grup 1 Referans İlaç grubu, Grup 2 Test İlaç grubu oluşturuldu. Grup 1'e Referans İlaç, Grup 2'ye Test İlaç kas içi (m. semitendinosus ile m. semimembranosus) yolla uygulandı. Tüm uygulamalarda doz 2.5 mg/kg c.a. olarak hesaplandı. Hayvanlardan uygulama öncesi (0.0 dk), ilaç uygulamalarını takiben 0.25 saatten başlamak üzere 0.5., 1., 2., 4., 8., 12., 18., 24. ve 36. saatlerde vakumlu heparinli tüplere doğrudan her seferinde 8- 10 ml kan alındı. Kanların plazmaları ayrıldı.

Plazmada enrofloksasinin özütlemesini takiben analizi Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografik (YBSK) yöntemle yapıldı. Her hayvan için çizilen plazma yoğunluğu-zaman eğrisinden ilacın vücutta 2-bölmeli dışarı açık modele göre dağıldığı anlaşıldı.

Yöntemin duyarlılığı 0.05 µg/ml olarak tespit edildi. Geriye kazanç %75-96 olarak bulundu. Enrofloksasinin 6.61-6.66 dakikalarda pik verdiği belirlendi.

Referans ve Test İlaçlarının biyoeşdeğerliği incelendi. Biyoeşdeğerliğin belirlenmesinde logoritmik dönüşümü yapılan Test İlacın EAA değerinin, Referans İlaça bölünmesi ile elde edilen değer (1,24) ve logoritmik dönüşümü yapılmayan Test İlacın t_{doruk} değerinin Referans İlaça bölünmesiyle elde edilen değer (%120) kabul edilebilir sınırlar içerisinde (0,80-1,25) olduğu belirlendi. Logoritmik dönüşümü yapılan Test İlacın Y_{doruk} değerinin Referans İlaça bölünmesi ile elde edilen değer (0,48) kabul edilebilir sınırlar içerisinde olmadığı belirlendi.

Çalışmada elde edilen veriler Test İlacın Ydoruk yönünden biyoeşdeğer olmadığını ancak EAA ve t_{doruk} yönünden biyoeşdeğer olduğunu gösterdi. Test İlacın Ydoruk değerinin Referans İlaçtan yüksek olması ise ilacın emilim yerinden daha iyi emildiğini gösterir. Test İlacın Referans İlaç yerine kullanılabileceği anlaşıldı.

Anahtar Kelimeler: Biyoeşdeğerlik, buzağı, enrofloksasin, farmakokinetik, YBSK.

SUMMARY

Study of bioequivalence of some enrofloxacin formulations following parenterally administration in calves.

In this study, two different parenterally administration enrofloxacin preparations were investigated for their bioequivalence. Ten female calves (Jersey strain) were fed by drug free feed for 30 days and then into decidual two groups (Group 1 and Group 2), each containing 5 calves. Group 1 was the Reference Drug Group, Group 2 was the Test Drug Group. Reference drug to Group 1 and Test drug to Group 2 were administered intramuscularly (m.semitendinosus and m.semimembranosus). Dose of 2.5 mg per kg of b.w. were calculated for all applications. Around 8,0-10,0 ml of blood samples were taken directly into vakuüm heparinized tubes from Group 1 ve Group 2 before (0,0 min) and after the drug administration 0.5, 1, 2, 4, 8, 12, 18, 24 ve 36 hours. After the blood samples were taken, their plasmas were dispersed.

Enrofloxacin extraction and analysis were carried out by the High Pressure Liquid Chromatographic (HPLC) method. The plasma drug concentration-time (AUC) curve each animals was drawn showed that enrofloxacin followed two-compermental open distribution model.

The sensitivity of the extraction method was detected 0.05 µg/ml. The mean recovery value of extraction procedure was about 75-96 per cent. The mean retention time for enrofloxacin were obtained at 6.61-6.66 min.

The bioequivalence of the reference and the test drug were figured out. Test drug showed the results for its bioequivalence in acceptable limits (0,80-1,25) which were calculated by dividing the AUC which was logarithmic transformed and t_{max} AUC which wasn't logarithmic transformed values by the reference drugs (for AUC 1,24 and t_{max} %20). Test drug showed the results for its bioequivalence in were not acceptable limits which were calculated by dividing the C_{max} which was logarithmic transformed (0.48).

The results indicate that Test Drug are bioequivalent with Reference drug terms AUC and T_{max} but was not bioequivalent with Reference drug terms C_{max} . Test Drug's value of C_{max} is higher than Reference Drug this show that better absorption of the Test drug was absorbed from; therefore, these drugs can be used in replacable means.

Key words: Bioequivalence, calf, enrofloxacin, HPLC, pharmacokinetic.

KAYNAKLAR

- AHANGAR, A., SRIVASTAVA, A. (2000). Pharmacokinetics of enrofloxacin in febrile cross-bred bovine calves. *Ind. J. Pharmacol.* **32**: 305-308.
- ALTINTAŞ, L. (2009). Ağızdan kullanılan bazı sülfanamid prepatlarının broilerlerde biyoeşdeğerliği. *Doktora tezi*. Ankara Üniv. Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü. Ankara.
- ALTREUTHER, P. (1987). Data on chemistry and toxicology of Baytril. *Vet. Med. Rev.* **2**:87-89.
- ANADON, A., MARTINEZ-LARRANAGA, G.A., DIAZ, M.J., VELEZ, B., BIRINGAZ, P. (1990). Pharmacokinetic and residues studies of quinolone compounds and olaquinolox in poultry. *Ann. Res. Vet.* **21**: 137-144
- ANADON, A., MARTINEZ-LARRANAGA, M.R., DIAZ, M.J., BRINGAS, P., MARTINEZ, M.A., FERNANDEZ-CRUZ, M.L., FERNANDEZ, M.C., FERNANDEZ, R. (1995). Pharmacokinetic and residues of enofloxacin in chickens. *Am. J. Vet. Res.* **6**: 501-506.
- ANONİM. (2004). Conduct of bioequivalence studies in animals. Erişim: <http://pharmacos.eudra.org/F2/eudralexivol-7/A/7AE4a.pdfj>. Erişim Tarihi:06.02.2008.
- APLEY, M.D., UPSON, D.W. (1993). Lung tissue concentrations and plasma pharmacokinetics of danofloxacin in calves with acute pneumonia. *Am. J. Vet. Res.* **54(6)**: 937-943.
- BAUDITZ, R. (1987). Results of clinical studies with Baytril in calves and pigs. *Vet. Med. Rev.*, **2**: 122-129.
- BAYDAN E., KURTDEDE, A., KAYA, S., BÖRKÜ, K., YARSAN E., PEKKAYA, S. (1998). Sağlıklı ve pyelonefritli köpeklerde enrofloksasinin farmakokinetiği üzerine çalışmalar. *YYÜ. Vet. Fak. Derg.*, **9**: 7-76.
- BAYER, A.G. (1999). Baytril. Erişim [<http://www.baytril.com/index.php/fuseaction/download/lrm>] Erişim tarihi: 5.12.2005.
- BRAİN, E., SCULLY, M. B. (1990). Pharmacology of the quinolones. *Supplement Urology.*, **35**:8-10.
- BROOME, R. L., BROOKS, D. L, BABISH, J. G.,COPELAND, D. D., CONZELMAN, G. M. (1991). Pharmacokinetics properties of enrofloxacin in rabbits. *Am. J. Vet. Res.* **52**: 1835-1841.
- BROWN, S. A. CHESTER, S.T., SPEDDY, A. K., HUBBARD, V. L., CALLAHAN, J.K., HAMLOW, P.J., HIBBARD, B., ROBB, E.J. (2000). Comparison of plasma pharmacokinetics and bioequivalence of ceftiour sodium in cattle after single intramuscular or subcutanes injection. *J.vet. Pharmacol. Therap.*, **23**: 273-280.
- CABANES, A., ARBOIX, M., ANTON, J.M.G., REIG, F. (1992). Pharmacokinetics of enrofloxacin after intravenous and intramuscular injection in rabbits. *Am.J. Vet. Res.* **53**: 90-93.
- CLARK, T.P., CHIEFFO, C., HUHN, J.C., NIMZ, E.L., WANG, C., BOY, M.G. (2003). The steady-state pharmacokinetics and bioequivalence of carprofen administered orally and subcutaneously in dogs. *J.Vet. Pharmacol Therap.* **26**:187-192.
- CHONG, W., KIM, Y. J., KIM, S. D., HAN. S.K., RYU, P.D. (2002). Lack of bioequivalence of two oxytetracycline formulations in the rabbits. *J. Vet. Res.* **53(11)**: 2090-2093.
- COLWELL,P.E., JAMALI, F., DRYDEN, W., FRIESEN, E., KOVEN, S., MOHAMED, I.,OSMOND, B., SEVERINÍ, A. S., SHELDON, L., SHELDON, R., TAM, Y., TSUYUKI, R., ZHANEL, G. (1998).

Bioequivalence and interchangeability of narrow therapeutic range drugs. Canadian society for pharmaceutical sciences discussion. *J. Pharm. Pharmaceut. Sci.* **1**(1):2-7.

- DAVID, C., HOOPER, D.C., JOHN, S., WOLFSON, M.D. (1991). Fluoroquinolone antimicrobial agents. *The New England Journal of Medicine*. Feb. **7**: 384-394.
- DAVIDSON, J.N., CONZELMAN, G.M., BAGGOT, J.D. (1986). Pharmacokinetics of 1-cyclopropyl-6-fluoro-1,4-dihydro-4-oxo-7(4-ethyl-1-piperazinyl)-3-quinole carboxylic acid (CFPQ) in pre-ruminant and ruminant calves, in Proceedings. *West Pharmacol So.* **29**: 129-132.
- DIMITRO, D.J., LASHEV, L.D., YANEV, ST.G., PANDOVA, V.T. (2006). Pharmacokinetics of enrofloxacin and its metabolite ciprofloxacin in male and female turkeys following intravenous and oral administration. *Vet. Res. Communications.* **30**: 415-422.
- ELMAS, M., TRAŞ, B. (1999). Bazı antimikrobiyel ilaçların plazma ve lenf sıvılarındaki farmakokinetik profillerinin karşılaştırılması. *J. Vet. Anim. Sci.* **23**: 591-597.
- EL KORCHI, G., PRATS, C., ARBOIX, M., PEREZ, B. (2001). Disposition of oxytetracycline in pigs after I.M. administration of two long-acting formulations. *J Vet Pharmacol Therap.* **24**(4): 247-250.
- ELMAS, M., YAZAR, E., TRAŞ, B., BAŞ, A.L., ERYAVUZ, A. (2000). Pharmacokinetics and oral bioavailability of enrofloxacin in faunated and defaunated Angora goats. *Revue Med. Vet.* **151**(6): 507-510.
- ELMAS, M., TRAŞ, B., KAYA, S., BAŞ, A.L., YAZAR, E., YARSAN, E. (2001). Pharmacokinetics of enrofloxacin after intravenous and intramuscular administration in Angora goats. *Can. J. Vet. Res.* **65**(6): 64-67.
- ELMAS, M., YAZAR, E., BAŞ, A.L., TRAŞ, B., BAYEZİT. M., YAPAR, K. (2002). Comparative pharmacokinetics of enrofloxacin and tissue concentrations of parent drug and ciprofloxacin after intramuscular administrations of free and liposome-encapsulated enrofloxacin in rabbits. *J. Vet. Med.* **49**: 507-512.
- EMEA. (2001a). Committee for proprietary medical products (CPMP) not for guidance on the investigation of bioavailability and bioequivalence. London, 26 July 2001. CPMP/EWP/1401/98.
- EMEA. (2001b). Guidelines for the conduct of bioequivalence studies for veterinary medical products. EMEA/CVMP/016/00.
- FDA. (2000). Guidance for industry. Bioavailability and bioequivalence studies for orally administered drug products –general considerations. Erişim: (<http://www.fda.gov/cder/guidance/3615fnl.pdf>). Erişim Tarihi: 06.05.2003.
- FDA. (2002). Guidance for industry. Bioavailability and bioequivalence studies for orally administered drug products –general considerations Center for Drug Evaluation and Research (CDER), October.
- FLAMMER, K., AUCOIN, D.P., WHITT, D.A. (1991). Intramuscular and oral disposition of enrofloxacin in African grey parrots following single and multiple doses. *J. vet. Pharmacol. Therap.* **14**: 359-366.
- GILES, C.J., MAGONIGLE, R.A., GRIMSHAW, W.T.R., TANNER, A.C., RISK, J.E., LYNCH, M.J., RICE, J.R. (1991). Clinical pharmacokinetics of parenterally administered danofloxacin in cattle. *J. vet. Pharmacol. Therap.* **14**: 400-410.
- GROENEVELD, A.J.N., BROUWERS, J.R.B.J. (1986). Quantitative determination of ofloxacin, ciprofloxacin, norfloxacin and perfloxacin in serum by high pressure liquid chromatography. *Pharmaceutisch Weekblad Scientific Edition*, **8**: 79-84.

- HANTASH, T.M., ABU-BASHA, E.A., ROUSSAN, D.A., ABUDABOS, A.M. (2008). Pharmacokinetics and Bioequivalence of Doxycycline (Providox® and Doxyvet 0-50 S®) Oral Powder Formulations in Chickens. *International Journal of Poultry Science*. **7(2)**: 161-164.
- HAİNES, G., BROWN, M., GRONWALL, R., MERRITT, K. (2000). Serum concentrations and pharmacokinetics enrofloxacin after intravenous and intragastric administration to mares. *Can. J. Vet. Res.* 171-177.
- HARİTOVA, A., LASHEV, L., PASHOV, D. (2003). Pharmacokinetics of enrofloxacin in lactating sheep. *Res. Vet. Sci.* **74**: 241-245
- HOOPER, D.C., WOLFSON, J.S. (1993). Adverse effects. In Hooper DC, Wolfson JS (eds): Quinolone Antimicrobial Agents, (2nd Ed). Washington DC, American Society for Microbiology, p.489-512.
- HUET, A.M., BOSCH, F., FLOCH, R., BAYLE, R. (1990). The bioequivalence of two injectable solutions of spiramycin in young cattle. *Ann. Rech. Vet.* **21** (1 supply): 67-71
- İBRAHİM, I. G. (2006). Enrofloksasinin etlik civciv ve piliçlerde eklemelere yönelik etkilerinin histopatolojik ve biokimyasal parametrelerle ile değerlendirilmesi. *Doktora Tezi*. Ankara Üniv. Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü . Ankara.
- INTORRE, L., MENGOZZI, G., BERTINI, S., BAGLIACCA, M., LUCHETTI, E., SOLDANI, G. (1997). The plasma kinetics and tissue distribution of enrofloxacin and its metabolite ciprofloxacin in the Muscovy duck. *Vet. Res. Commun.* **21**: 127-136.
- İLAÇ ENDÜSTRİSİ İŞ VERENLER SENDİKASI (2011). Türkiye'de eşdeğer ilaç. Erişim: http://www.ieis.org.tr/asp_sayfalar/index.asp?menuk=13&sayfa=700 Erişim Tarihi: 04.01.2011
- KAARTINEN, L., PYORALA, S., MOILANEN, M., RAISANEN, S. (1995). Pharmacokinetics of enrofloxacin after single intravenous, intramuscular and subcutaneous injections in lactating cows. *J. vet Pharmacol Therap.* **18**: 357-362
- KAARTINEN, L., PYORALA, S., MOILANEN, M., RAISANEN, S. (1997). Pharmacokinetics of enrofloxacin in newborn and one-week- old calves. *J. vet. Pharmacol. Therap*, **20(6)**: 479-482.
- KANICI, A. (2009). Ağızdan kullanılan bazı enrofloksasin müstahzarlarının etçi piliçlerde biyoeşdeğerliğinin incelenmesi. *Doktora tezi*. Ankara Üniv. Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü. Ankara.
- KAYA, S., BAYDAN, E., BİLGİLİ, A., YARSAN, E., ŞEKER, Y. (1996). Etlik piliçlerde enrofloksasinin farmakokinetiği ve manganla enrofloksasin arasında emilme yönünden etkileşimler. *Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg.*, **43(2)**:195-202.
- KAYA S. (2000a). Antibiyotikler. Alınmıştır: *Veteriner Uygulamalı Farmakoloji*. Editörler. S.Kaya, İ.Pirinç, A Bilgili. Cilt 2. Baskı 2. Medisan Yayınevi. Ankara. s.: 267-420.
- KAYA S. (2000b). Farmakokinetik. Alınmıştır: *Veteriner Uygulamalı Farmakoloji*. Editörler. S. Kaya, İ.Pirinci, A. Bilgili. Cilt 1. Baskı 2. Medisan Yayınevi. Ankara. s.: 47-123.
- KAYA S. (2007). Antibiyotikler. Alınmıştır: *Veteriner Farmakoloji*. Editör. S. KAYA. 2.Cilt, 4. Baskı, Ankara: Medisan Yayınevi, s.: 327-488.
- KAYAALP, S.O. (2008). Biyoyararlanım ve Biyoeşdeğerlik Araştırması. Klinik Farmakolojinin Esasları ve Temel Düzenlemeler. 4. Baskı, Ankara. Pelikan Yayıncılık LTD.ŞTİ, s: 796-797.
- KKGM. (2011). Erişim: [<http://www.kkgm.gov.tr>]. Erişim Tarihi: 03.04.2011.
- KONTOS, V.I., ATHANASIOU, L.V. (1998). Use of enrofloxacin in the treatment of acute canine ehrlichiosis. *Canine Practice*. **23**: 10-14

- KUNG, K., RIOND, J.L., WANNER, M. (1993). Pharmacokinetics of enrofloxacin and its metabolite ciprofloxacin after intravenous and oral administration of enrofloxacin in dogs. *J. vet. Pharmacol. Therap.* **16**: 462-468.
- LAYVY, E., ZIV, G., AROCH, I., GLICKMAN, A. (1995). Pharmacokinetics, intramuscular bioavailability and bioequivalence of amoxicillin in donkeys. *Zentralbl Veterinarmed B.* **45**(5): 284-292
- LIFSCHITZ, A., PIS, A., ALVAREZ, L., VIRKEL, G., SANCHEZ, S., SALLOVITZ, J., KUJANEK, R., LANUSSE, C. (1999). Bioequivalence of ivermectin formulations in pigs and cattle. *J vet Pharmacol Therap.* **22**(1): 27-34.
- LIU, L., QI, M., WANG, P., LI, H. (2004). High-performance liquid chromatographic method for the bioequivalence evaluation of desloratadine fumarate tablets in dogs. *Pharmaceutical and Biomedical Anal.* **34**: 1013-1019.
- MARTÍNEZ M.N., PEDERSOLI, W.M., RAWIS, W.R, JACKSON, J.D., CULLISON, R. (2001). Feasibility of interspecies extrapolation in determining the bioequivalence of animal products intended for intramuscular administration. *J. vet. Pharmacol. Therap.* **24**: 125-135.
- NEER, M. (1988). Clinical pharmacologic features of fluoroquinolone antimicrobial drugs. *JAVMA.* **193**: 577-580.
- NEUMAN, M. (1988). Clinical pharmacokinetics of the newer antibacterials: 4-quinolones. *Clin. Pharmacokinetic.* 14:96-121.
- NOUWS, J.F., MEVIUS, D.J., VERE, T.B., BAARS, A.M., LAURENSEN, J. (1998). Pharmacokinetics, renal clearance and metabolism of ciprofloxacin following intravenous and oral administration to calves and pigs. *The Vet. Quarter.* **10**: 156-163.
- OR. E., DODURKA, T., YILGIN, C., TAN, H. (1994). Biyoyayarılanım ve veteriner hekimlik açısından önemi. *İstanbul Üniv. Vet. Fak. Derg.* **20**(2-3): 5-11.
- ÖNER, L. (2003). Değişirilebilir (interchangeable) ilaç ve biyoeşdeğerlilik. Erişim: [http://www.recete.org/mised/mised_3/9.php]. Erişim Tarihi: 06.05.2003.
- ÖZDEMİR, O. (2005). Medikal İstatistik. 1. Baskı, İstanbul Medikal Yayıncılık, s:163-166.
- PARLAR, A., KAYA, S. (2005). Etlik piliçlerde enrofloksasin içeren müstahzarların farmakokinetiği. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi,* **52**(2): 99-103.
- PATTON, J.H., REEVES, D.S. (1988). Fluoroquinolone antibiotics: Microbiology, pharmacokinetics and clinical use. *Drugs.* **36**: 193-228.
- PLUMB, D.C. (1991). Enrofloxacin. Alınmıştır. *Plumb's Veterinary Drug Handbook.* Pharma. Vet. Publishing. USA. 5nd Ed., 295-298.
- POSNIYAK, A., ZMUDZKI, J., SEMENIUK, S., NIEDZIELSKA, J. AND ELLIS, R. (1999). Determination of fluoroquinolone residues in animal tissues by liquid chromatography. *Biomed. Chromato.* **13**: 279-285.
- POSNIYAK, A., ZMUDZKI, J., NIEDZIELSKA, J. AND BIERNACKI, B. (2001). Bioequivalence study of two formulations of enrofloxacin following oral administration in chickens. *Bull. Vet. Inst. Pulawy,* **45**: 353-358.
- PRESCOTT, J.F., BAGGOT, J.D. (1993). Antimicrobial Therapy in Veterinary Medicine. 2nd Ed. Iowa State Univ.
- RAIPUIA, M., DUMKA, K.V., SANDHU, H.S., RAM, D. (2006). Gatifloxacin pharmacokinetics in buffalo calves after single intramuscular administration. *Veterinary Arhiv.* **76**(6): 471

- RESMÎ GAZETE (1994). Farmasötik müstahzarların biyoyararlanım ve biyoeşdeğerliğinin değerlendirilmesi hakkında yönetmelik. Yayın Tarihi: 27 Mayıs 1994. Sayı: 21942. Erişim: (<http://suam.uludağ.edu.tr/files/08.pdf>). Erişim Tarihi: 06.09.2009.
- RESMÎ GAZETE (2002). Veteriner ispençiyari ve tıbbi müstahzarlar ruhsat yönetmeliği. Yayın Tarihi: 23 Ekim 2002. Sayı: 24915. Erişim: (http://kkgm.gov.tr/Mevzuat/Vet_ispenciari_yonetmeligi.htm). Erişim Tarihi: 30.10.2005.
- RESMÎ GAZETE (2010). 5996 sayılı veteriner hizmetleri, bitki sağlığı, gıda ve yem kanunu. Yayın Tarihi: 13 Haziran 2010. Sayı: 27610. Erişim: (<http://kkgm.gov.tr/mev./kanun.html>). Erişim Tarihi: 21.07.2011.
- RUBUELTO, M., MONTOYA, L., KREIL, V., AMBROS, L., WAXMAN, S., ALBARELLOS, G., HALLU, R. (2005). Pharmacokinetics of two once-daily parenteral cephalexin formulations in dogs. *J Vet Pharmacol Therap.* **28**(5):419-423.
- RUTGERS, H.C., STEPIEN, R.L., ELWOOD, C.M., SİMPSON, K.W., BATT, R.M. (1994). Enrofloxacin treatment of Gram-negative infections. *Vet Rec.* **135**: 357-359.
- SANDERS, P., GUILLOT, P. (1990). The bioequivalence of intramuscular and subcutaneous administration of formulation of oxytetracycline in te young bull. *Ann. Rec. Vet.* **21** (1 supply): 57-67.
- SARASOLA, P., LEES,P., SHOJAE, F., ABADI, A., QUINTİN A., MCKELLAR., WILLIAM, D., KATE, A., SUNDERLAND, S., ROWAN,T. (2002). Pharmacokinetic and pharmacodynamic profiles of danofloxacin administered by two dosing regimens in calves infected with *Mannheimia (Pasteurella) haemolytica*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy.* **46**: 3013-3019.
- SARICA SOYER., Z., LİMAN, B.C. (2008). *The comparison of bioequivalence of two different specialites including ciprofloxacin used in broiler chickens. Journal of Health Sciences,* **17**(1): 23-30
- SCHEER, M. (1987). Studies on the antibacterial activity of Baytril. *Vet Med Rev.* **59**:90-99.
- SEGUIN, M.A., PAPICH, M.G., SİGLE, K.J., GİBSON, N.M., LEVY, J.K. (2004). Pharmacokinetics of enrofloxacin the neonatal kittens. *Am. J.Vet. Res.* **65**: 3-11.
- SHUMAKER, R.C. (1986). PKCALC: A basic interactive computer program for statistical and pharmacokinetic analysis of data. *Drug Metabolism Rev.* **17**: 331-348.
- SUMANO, L.H., GUTIERREZ, O. L., OCAMPO, C.L. (2001). Non- bioequivalence of various trademarks of enrofloxacin and Baytril in cows. *Dtsch Tierarztl Wochenschr.* **108**(7): 311-314.
- ŞAHAN, S., KAYA, S.(2006). Hidrate sodyum kalsiyum aluminosilikat içeren yemle beslenen etlik piliçlerde enrofloksasinin farmakokinetiği. *Ankara Üniv. Vet. Fak. Dergi.* **53** (2): 111-115.
- ŞAHİN, S. (2003). Biyoyararlanım ve biyoeşdeğerlik çalışmalarında farmakokinetiğin önemi. Erişim: (http://www.recete.org/mised/mised_3/9.php). Erişim Tarihi: 06.05.2003.
- ŞANLI, Y. (1999). Veteriner Klinik Farmakoloji. Özhan Matbaacılık. Ankara.
- TARIM SİGORTASI KANUNU (5363). 21.06.2005 tarih ve 25852 sayılı Resmi Gazete.
- TOUTAIN, P.L., KORITZ, G.D. (1997). Veterinary drug bioequivalence determination. *J. vet. Pharmacol. Therap.* **20**: 79-90.
- TRAŞ, B., YAZAR, E. (2002). Bioequivalence as quality, efficacy and safety test for drugs. Erişim: (<http://www.tvhb.org.tr/Dergi/ilackalite.htm>). Erişim Tarihi: 06.05.2003.
- TRAŞ, B., YAZAR, E., ELMAS, M. (2005). Veteriner Hekimliğinde İlaç Kullanıma Pratik ve Akılcı Yaklaşım. Selçuk Üniversitesi Basımevi. Konya.

- VANCUTSEM, P.M., BABISH, J.G., SCHWARK, W.S. (1990). The Fluoroquinolone antimicrobials: Structure, antimicrobial activity, pharmacokinetics, clinical use in domestic animal and toxicity. *Cornell Vet.* **80**:173-186.
- WAGNER, J. G. (1979). Fundamentals of clinical pharmacokinetic.. Printed in the United States of America by the Hamilton Pres, Inc. Hamilton. Illinois.
- WALKER, R.D., STEIN, G.E., BUDSBERG, S.C., ROSSER, E.J., MACDONALD, K.H. (1992). Pharmacokinetics evaluation of enrofloxacin administered orally to healthy dogs. *Am. J. Vet. Res.* **53**: 2315-2319.
- WHO. Technical Report Series, 863 (1996). WHO Expert Committee on Specifications for Pharmaceutical Preparations, WHO, Geneva, pp 114-140.
- YILMAZ, İ. (2006). Enrofloksasin içeren iki farklı müstahzarın sığırlarda kas içi yolla uygulama sonrası biyoeşdeğerliğinin incelenmesi. *Doktora Tezi*. Selçuk Univ. Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü. KONYA.
- ZENDELOVSKA, D., STAFILOV, T. (2005). Development and validation of high-performance liquid chromatographic method for determination of ofloxacin and lomefloxacin in human plasma. *J. Serb.Chem.Soc.* **70**(12): 1451-1460.

ANKARA ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU KARAR ÖRNEĞİ

TOPLANTI TARİHİ :20/09/2007
TOPLANTI NO :2007-7
DOSYA NO :2007-56
KARAR NO :2007-7-17

Üniversitemiz Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Prof.Dr.Sezai Kaya'nın araştırma yürütücüsü olduğu, doktora öğrencisi Gül Banu Çiçek ile ortak çalışmaları olan "Parenteral Olarak Kullanılan Bazı Enrofloksasin Müstahzarlarının Buzağılarda Bioeşderliğinin İncelenmesi" başlıklı doktora tez çalışmaları Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulunda incelenmiş, yapılan inceleme sonucunda çalışma Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Yönergesine göre uygun bulunarak onaylanmasına katılan üyelerin oy birliği ile karar verilmiştir.


ASLININ AYNIDIR
25/09/2007


Prof.Dr.Hakan YARDIMCI
Ankara Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel
Etik Kurulu Başkanı

ÖZGEÇMİŞ

I- Bireysel Bilgiler

Adı :Gül Banu
 Soyadı :ÇİÇEK BİDECİ
 Doğum Yeri ve Tarihi :Ankara. 20.03.1981
 Uyruğu :T.C.
 Medeni Durumu :Evli
 İletişim Adresi ve Telefonu :Başkent Sitesi D-blok 3 Merkez-Kastamonu
 05444634947
 E-posta :cicekvet@hotmail.com

II- Egitimi

Lisans :Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi (1999–2004)
 Lise :Fatih Sultan Mehmet Lisesi (1994–1999), ANKARA
 Orta Okul :Fatih Sultan Mehmet Lisesi (1991–1994), ANKARA
 İlk Okul :Gülpınar İlköğretim Okulu (1986–1991), ANKARA
 Yabancı dili :İngilizce

III- Mesleki Deneyimi:

Özel Sektör :2004-2005 Çiftlik Veteriner Hekimi Gündönümü Çiftliği,
 İSTANBUL.
 2005-2006 Kastamonu Damızlık Sığır Yetiştiricileri Birliği
 2006- 2010 Serbest Veteriner Hekim Merkez
 KASTAMONU.
 Resmi Veteriner Hekim :2010 Veteriner Hekim Tarım İlçe Müdürlüğü- Bozkurt
 KASTAMONU.

IV- Bilimsel İlgi Alanları

1. BİDECİ, G.B., KANICI, A. (2010). Bazı Tıbbi Bitkiler: İstenen ve istenmeyen etkileri ile kullanılmaları. *Üçüncü Ulusal Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji Kongresi*. 30 Eylül–2 Ekim 2010, Aydın. Poster.

V- Bilimsel Etkinlikleri

Seminer 1 :Prostaglandinler ve Veteriner Hekimlikte Kullanım Alanları
 Seminer 2 :Bazı Tıbbi Bitkiler: İstenen ve İstenmeyen Etkileri ile Kullanılmaları

VI-Diğer Bilgiler

Eğitim Programı Haricinde Aldığı Kurslar ve Katıldığı Eğitim Seminerleri

1. HACCP, 5179 ve 3285 Sayılı Kanunlarla, Bağlı Yönetmelikleri Konusunda Akredite Veteriner Hekimlik Eğitimi, 07–14 Nisan 2010. T.C Tarım ve Köyşleri Bakanlığı Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğü. KASTAMONU.

2. Bakanlık Temsilcisi Eğitimi. 11–13 Ocak 2011. T.C Tarım ve Köyşleri Bakanlığı Teşkilatlanma ve Destekleme Genel Müdürlüğü. Ilgaz-KASTAMONU.

3. Proje Döngüsü Yönetimi ve AB Fonlarının Kullanımı Konulu Eğitim Programı. 21-25 Şubat 2011. T.C Tarım ve Köyşleri Bakanlığı Teşkilatlanma ve Destekleme Genel Müdürlüğü; TOKAT.

Katılmış Olduğu Bilimsel Toplantı ve Seminerler

1. Birinci Ulusal Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji Kongresi (Uluslar arası Katılımlı). 22-24 Eylül 2005, Ankara.

2. Üçüncü Ulusal Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji Kongresi (Uluslar arası Katılımlı).30 Eylül-2 Ekim 2010. Aydın.