Cilt: 5 • **Sayı:** 3 • **Yıl:** 2020 **ISSN:** 2587 - 120X

TÜRK FARMAKOPE DERGİSİ

Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu
Ankara
www.Turkfarmakopedergisi.gov.tr

Sahibi
Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu adına
Doç.Dr. Tolga TOLUNAY

Sorumlu Yazı İşleri Müdürü
Bil.Uzm.Ecz. Mehmet Emre ÖZDEMİRHAN

Baş Editör
Doç.Dr. Tolga TOLUNAY
Uzm.Dr. Elif Hilal VURAL

Editör
Doç.Dr. Evren ALĞIN YAPAR

Yayın Kurulu
Dr. Fahrettin KOCA
Prof.Dr. Emine ALP MEŞE
Doç.Dr. Tolga TOLUNAY
Uzm.Dr. Elif Hilal VURAL
Doç.Dr. Evren ALĞIN YAPAR
Bil.Uzm.Ecz. Mehmet Emre ÖZDEMİRHAN
Dr.Kim.Müh. Fatma ERDEM
Bil.Uzm.Ecz. Fatma Esra HASPOLAT

T.C. Sağlık Bakanlığı
Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu
Ekonomik Değerlendirmeler ve Laboratuvar Hizmetleri Başkan Yardımcılığı
Analiz ve Kontrol Laboratuvarları Dairesi Başkanlığı
Telefon: 0312 565 56 79 • Belgeç: 0312 565 52 57
Elmek: Turkfarmakopedergisi@titck.gov.tr
Genel Ağ: http:/www.Turkfarmakopedergisi.gov.tr

ISSN : 2587- 120X
T.C. Sağlık Bakanlığı Yayın No : 1041
TİTCK Yayın No : 5
1. Baskı - ANKARA
Yayın Türü: Yaygın Süreli Yayın. Yayın Şekli: 3 Aylık - Türkçe.
Kâğıt Türü: Asitsiz.
Kuruluş Tarihi: 04 Mayıs 2016
Yayının İdare Adresi: Söğütözü Mah. 2176. Sok. No:5 06520 Çankaya / ANKARA
Grafik Tasarım/ Basımcı Adı/Adresi: İleri Basım Matbaacılık A.Ş.
B.Evler Mh. F. Çakmak Cd. Güzelşehir Sit. No: 22/1 ANP Büyükçekmece/İSTANBUL • Tel: 0212 454 35 10
Basım Miktarı: 600 Adet

BİLİMSEL KURUL

Abdullah OLGUN, Prof.Dr.
Ayhan FİLAZİ, Prof.Dr.
Ayhan SAVAŞER, Prof.Dr.
Ayşe Gülten KANTARCI, Prof.Dr.
Ayşegül DEMİRTAŞ, Bil.Uzm.Ecz.
Ayşegül KARATAŞ, Prof.Dr.
Birsel S. UYDEŞ DOĞAN, Prof.Dr.
Belma GÜMÜŞEL, Prof.Dr.
Benay Can EKE, Prof.Dr.
Bengi USLU, Prof.Dr.
Berna ÖZBEK ÇELİK, Prof.Dr.
Burçin ÇAĞAN, Dr.Ecz.
Bülent GÜMÜŞEL, Prof.Dr.
Canan KARAALP, Prof.Dr.
Çağla BOZKURT GÜZEL, Doç.Dr.
Elif Hilal VURAL, Uzm.Dr.
Emirhan NEMUTLU, Prof.Dr.
Engin KILIÇ, Dr.Öğr.Üyesi
Erdal CEVHER, Prof.Dr.
Erhan PALASKA, Prof.Dr.
Esra AKKOL, Prof.Dr.
Esra BALOĞLU, Prof.Dr.
Evren ALĞIN YAPAR, Doç.Dr.
Evren HOMAN GÖKÇE, Doç.Dr.
Filiz KOÇ, Dr.Bio.
Gökhan CENGİZ, Bil.Uzm.Bio.
Göksel ŞENER, Prof.Dr.
Gül ÖZHAN, Prof.Dr.
Gülçin SALTAN İŞCAN, Prof.Dr.
Gülnur EKŞİ BONA, Dr.Bio.
Hakan DAL, Prof.Dr.
Hakan ERDOĞAN, Dr.Öğr.Üyesi
Hakan EROĞLU, Prof.Dr.
Hakkı GÜRSÖZ, Dr.
Harun KIZILAY, Dr.Ecz.
Hatice Kübra ELÇİOĞLU, Prof.Dr.
İffet İrem TATLI ÇANKAYA, Prof.Dr.
İlhan BOZYİĞİT, Vet.Hek.
İlkay ERDOĞAN ORHAN, Prof.Dr.
İmran VURAL, Prof.Dr.
İsmail Mert VURAL, Doç.Dr.
Makbule AŞIKOĞLU, Prof.Dr.
Meral TUNÇBİLEK, Prof.Dr.
Mesut SANCAR, Prof.Dr.
Murat KARTAL, Prof.Dr.
Müzeyyen DEMİREL, Prof.Dr.
Nafiz Öncü CAN, Prof.Dr.
Nevin ÇELEBİ, Prof.Dr.
Nuray ARI YILDIZOĞLU, Prof.Dr.
Özcan ÖZKAN, Doç.Dr.
Özgen ÖZER, Prof.Dr.
Sema ÇALIŞ, Prof.Dr.
Semra ŞARDAŞ, Prof.Dr.
Sevgi GÜNGÖR, Prof.Dr.
Sibel Ayşıl ÖZKAN, Prof.Dr.
Sinem Yaprak KARAVANA, Doç.Dr.
Sümeyra TUNA YILDIRIM, Dr.Öğr.Üyesi
Tansel ÇOMOĞLU, Prof.Dr.
Temel ÖZEK, Prof.Dr.
Tolga TOLUNAY, Doç.Dr.
Türkan ELDEM, Prof.Dr.
Umut BESKAN, Dr.Kim.
Yalçın ÖZKAN, Prof.Dr.
Yıldız ÖZSOY ERGİNER, Prof.Dr.
Yılmaz ÇAPAN, Prof.Dr.
Yunus YÜCE, Bil.Uzm.Bio.
Yusuf ÖZKAY, Prof.Dr.
Yücel DENER, Kim.

Bu yayın; T.C. Sağlık Bakanlığı Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu tarafından hazırlanmış ve bastırılmıştır. Her türlü yayın hakkı, T.C. Sağlık Bakanlığı Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumuna aittir. Kaynak gösterilmeksizin alıntı yapılamaz. Kısmen dahi olsa alınamaz, çoğaltılamaz, yayımlanamaz. Ücretsizdir. Parayla satılamaz.

TÜRK FARMAKOPE DERGİSİ YAZIM KURALLARI

1. Türk Farmakope Dergisi, Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu'nun yılda dört defa yayımlanan bilimsel yayım organıdır.

2. Türk Farmakope Dergisi, Türk Farmakopesi ve Dünya Farmakopeleri'nde yer alan yöntemler, etken maddeler, bitmiş ürünler, tıbbi cihazlar, kozmetik ürünler ve Eczacılık alanındaki gelişmeleri konu alan araştırma, derleme, teknik doküman editöre mektup türündeki yazıları yayımlar.

3. Türk Farmakope Dergisi, Dergi Yayın Kurulunun yayım kurallarına uymayan yazıları yayımlamama, düzeltilmek üzere yazarına geri verme veya hakemlere inceletme yetkisi vardır. Yayın Kurulu, yazım kurallarına uygunluk sağlamak amacıyla, yayımlanması için gönderilen yazıların gözden geçirilip düzeltilmesini, kısaltılmasını veya yeniden düzenlenmesini isteyebilir.

4. Yayımlanması amacıyla dergiye gönderilen yazılar, yayına kabul edilmeden önce yayın kurulu ve en az iki hakemin incelemesinden geçer. Yayın Kurulu gerek gördüğünde, bilimsel kurul dışındaki bilim insanlarının danışmanlığından yararlanabilir.

5. Yayımlanmak üzere dergiye gönderilen yazıların daha önce başka bir yerde yayımlanmamış, yayımlanmak üzere eş zamanlı olarak başka bir dergiye gönderilmemiş olması gereklidir. Bilimsel Kongrelerde yapılan sunumlar, bu durum belirtilerek yayımlanabilir.

6. Yazı dili Türkçe'dir. Yazılar Türk Dil Kurumu tarafından belirlenen dil bilgisi ve yazım kurallarına uygun olmalıdır. Türkçe yazılardaki terimler öz Türkçe veya Latince olmalı, gereksiz, sık ve yerleşik olmayan kısaltmalardan kaçınılmalı, kaynaklarda güncel kaynaklardan faydalanılmalıdır.

7. Yazar/Yazarlar, yazı hazırlama aşamasında Türk Farmakope Dergisi`nin önceki sayılarından ilgili makalelere atıfta bulunmalıdır.

8. Yayımlanması için gönderilen yazılarda tüm yazarların imzalı onayını gösteren "Telif Hakkı Devri" formu doldurularak Turkfarmakopedergisi@titck.gov.tr adresine çevrimiçi olarak gönderilmelidir.

9. Türk Farmakope Dergisi'nde yayıma kabul edilen ve yayımlanan tüm yazıların içerikleri, yazarların görüşlerini yansıtır, çalışmaların etik kurallara uygunluğu ve bilimsel içeriği yazarların sorumluluğundadır ve hiçbir şekilde Dergi ve Yayın Kurulu sorumlu değildir. Eğer makalede daha önce yayımlanmış; alıntı yazı, tablo, resim vs. mevcut ise makale yazarı, yayın hakkı sahibi ve yazarlarından yazılı izin almak ve bunu makalede belirtmek zorundadır.

10. Yazılar, kenarlardan 3'er cm boşluk kalacak şekilde ve sayfaya yaslanarak, 11 birim büyüklüğünde, "Arial" karakteri ile 1.5 satır aralıklı, paragraflar arası 6 nk aralık bırakılarak "Microsoft Word" programı ile yazılıp Turkfarmakopedergisi@titck.gov.tr adresine çevrimiçi olarak gönderilmelidir. Gönderilen yazılar, yayına kabul edilsin veya edilmesin iade edilmez.

11. Gönderilen yazılar, birinci sayfadan itibaren sağ üst köşede sayfa numarası verilerek, aşağıda belirtilen bölümler halinde hazırlanmalıdır.

a. Başlık sayfası: Sırasıyla yazının başlığı büyük yazı karakterinde ve kırmızı olacak şekilde sola hizalı yazılmalıdır. Alt satırda Yazarların isimleri (meslek unvanı kullanılmadan) yan yana sıralanarak yazarların soyadından sonra üst simge ile numaralandırma yapılmalıdır (1, 2, 3 vb.). Sorumlu yazar, soyadından sonra "*" simgesi ile belirtilmelidir. Alt satırlarda sıra ile yazarlara ait

çalışmanın yürütüldüğü yer (anabilim dalı, kurum, üniversite vb.), cadde/sokak adı, posta kodu, ilçe-şehir bilgileri yer almalıdır. Sadece sorumlu yazarın elmek adresi adres satırının altında verilmelidir. Yazı daha önce bir kongrede sunuldu ise kongre ismi, yeri ve tarihi sorumlu yazarın elmek adresinden önceki satırda belirtilmelidir.

b. Türkçe özet ve anahtar kelimeler: Çalışmanın tamamının anlaşılmasını sağlayacak şekilde ve tek paragraf halinde, çalışmanın türü, amacı, gereç ve yöntemi, bulguları, tartışma ve sonuçları, 200 kelimeyi geçmeden ve alt başlıklar kullanılmadan özetlenmelidir. Özet içinde, ölçümler dışında kısaltmalar kullanılmamalıdır. Özetin altındaki paragrafta, içerik ve bilgisayar programlarına uygun, çalışmanın özü, özeti ile uyumlu ve en fazla beş adet anahtar kelime verilmelidir. Anahtar kelimeler Türkiye Bilim Terimleri arasından (www.bilimterimleri.com) seçilmelidir.

c. İngilizce başlık, özet ve anahtar kelimeler: Türkçe anahtar kelimelerden sonraki alt satıra Türkçe Makale Başlığıyla uyumlu İngilizce başlık büyük yazı karakterinde ve kırmızı olacak şekilde sola hizalı olarak verilmelidir. İngilizce özet (Abstract) Türkçe özette verilen metnin İngilizceye uyumlu şekilde çevrilmesiyle oluşturulmalıdır. Bu özet de 200 kelimeyi geçmemeli ve altındaki satırda “Index Medicus” veri tabanına uygun en fazla beş adet anahtar kelime (Keywords) içermelidir.

d. Makale ana başlıkları “Arial” karakterinde, koyu, 11 punto, sola hizalı olacak şekilde kırmızı renkli ve numaralı olarak eklenmelidir. Ana başlıkların tamamı, birinci alt başlıklarda bütün kelimelerin ilk harfi, ikinci alt başlıklarda yalnız birinci kelimenin ilk harfi büyük harflerle, ana başlıkta ve alt başlıktaki “ve”, “ile” gibi bağlaçlar tamamen küçük harflerle yazılmalıdır. Birinci ve ikinci tüm alt başlıklar siyah ve koyu yazılmalıdır. Alt başlıklar ile bir önceki paragraf arasında bir satır boşluk olmalı, alt başlıkların altındaki paragraf ile arasında boş satır konmamalıdır.

e. Teşekkür: Yazının hazırlanmasında dolaylı katkıları olanların katkılarını açıklayan ve onlara teşekkür ifade eden sade cümleler kullanılmalıdır.

f. Kaynakça: Kişisel görüşmeler veya yayınlanmamış veriler, kaynak olarak gösterilemez. Çok gerekli ise, metin içinde bahsedilebilir. Dergilerin isimleri, Index Medicus’da belirtilen şekilde kısaltılmalıdır. Metin içindeki kaynak göstermelerde numaralandırma sistemi geçerlidir. Kaynak numaraları ile ilgili cümle sonunda köşeli parantez kullanılarak [1], [3], [5] vb. rakamlarla numaralandırma yapılmalı ve metin sonunda “Kaynakça” kısmında metin içerisinden kullanılma sırasına uygun olarak numaralandırılmalıdır. Metin içinde atıf yapılan her kaynağa Kaynakçada yer verilmeli, Kaynakçada yer verilen her kaynağa da metin içinde atıf yapılmalıdır. Kaynak sayısı 100 adedi geçmemelidir.

Kaynakların yazımı için örnekler:

<u>Makale için:</u>

Tekdemir O, Özsoy Y. Veteriner alanda kullanılan modifiye salımlı dozaj şekilleri. Türk Farmakope Dergisi. 2020; 5(2): 25-36.

Yazar sayısı altının üzerinde olan makaleler için, ilk altı yazarın isimleri belirtilir ve altıncı yazardan sonra "ve ark. (et al.)" ifadesi eklenir.

<u>Kitaptan bir bölüm için:</u>

Yesilada E. Evidence-Based Evaluation of Turkish Folk Remedies for Wound Healing Potential. In Mukherjee PK. (ed.). Traditional Medicine and Globalization- The Future of Ancient Systems of Medicine Maven Publishers, 2014: 698 pp. Chapter 20. pp.31-45 [ISBN 978-819-26-2430-3].

Şenel S, Vural İ. Farmasötik Su. In: Zırh Gürsoy A (ed). Farmasötik Teknoloji. 2inci baskı. İstanbul:

Aktif Matbaa ve Reklam Hizmetleri San. Tic. Ltd. Şti, 2012: 137-146. [ISBN 975-97725-1-5].

Tek yazarlı bir kitaptan alınan bölüm için:

Praat RTC. The Genetics of Neurological Disorders. London: Oxford University Press, 1967: 173-174.

Kongre bildirileri için:

Sarıcı SÜ, Dabak O, Erdinç K, Okutan V, Lenk MK. İntravenöz ibuprofenin bildirilmemiş bir komplikasyonu: gastrointestinal kanama. 18. Ulusal Neonatoloji Kongresi, 21-24 Nisan 2010, Bodrum. Kongre Özet Kitabı, 329-330.

Basılmış tez için:

Kurt M. Eczacılık fakültelerinde farmakoekonomi eğitimi ve öğrencilerin farmakoekonomi ile ilgili bilgi düzeyleri. Yüksek Lisans Tezi, Yeditepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 2012.

Genel Ağ adresleri için:

Webber S. (2008, 10 Ekim). Information literacy in work place contexts. 22 Ekim 2008 tarihinde http://information-literacy.blogspot.com/ adresinden erişildi.

12. Tablolar: Makale içinde geçiş sırasına göre Arabik rakamlar ile numaralanmalı, tabloların her biri ayrı bir sayfaya ve başlıkları tablo üzerinde olacak şekilde yazılmalıdır. Tablo açıklamalarının yazımında da "blok" sistemi korunmalı; açıklamaların bir satırdan daha uzun olması halinde, ikinci ve diğer satırlar, açıklamanın satır başı hizasından başlamalıdır. Tablo içeriği "Arial" karakterinde 8-10 punto ile yazılmalıdır. Tablo başlıklarında "Tablo 1." kısmı kalın olarak, diğer kısımları normal tonda, sola dayalı ve küçük harflerle yazılmalıdır. Metin içinde tabloların geçtiği yer, en uygun yerde parantez içinde belirtilmelidir. Bir sayfadan daha büyük olan tablolar, metin içinde bulunmak zorunda ise bir sayfa boyutlarında (uygun bir yerden) bölünmelidir. Tablonun devamı bir sonraki sayfada aynı tablo numarasıyla ve aynı başlıkla verilmeli ancak tablo numarasından sonra parantez içinde "Devam" ibaresi yazılmalıdır.

13. Şekil, resim ve fotoğraflar: Makale içinde geçiş sırasına göre, Arabik rakamlar ile numaralandırılmalı, şekil ve resimlerin yerleri, metin içinde en uygun yerde parantez içinde belirtilmelidir. Şekil başlıklarında "Şekil 1." Kısmı kalın olarak, diğer kısımlar normal tonda ve küçük harflerle sola dayalı yazılmalıdır. Şekil, resim ve fotoğraflar en az 600 dpi grafik çözünürlükte olmalı ve jpg, tiff, gif vb. formatta bulunmalıdır.

14. Eşitlik yazımı: Metin içindeki eşitlikler Eş.1, Eş.2 şeklinde verilmelidir. Eşitlik numaralandırmaları eşitliğin devamı satır sonunda parantez içerisinde sıralı olarak verilmelidir.

15. Metin içinde geçen küsuratlı sayıların yazımında Türk Farmakopesi yazım şablonuna uygun olarak nokta "." işareti kullanılmalıdır.

İÇİNDEKİLER

Cilt: 5 • Sayı: 3 • Yıl: 2020

Yönetici Yazısı
Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu Başkanı
Doç.Dr. Tolga TOLUNAY — 9

Milli Monograflar

Doğu Ladin Uçucu Yağı
Oriental Spruce Essential Oil
Piceae aetheroleum
Temel ÖZEK, Gülmira ÖZEK, Mehmet Emre ÖZDEMİRHAN, Evren ALĞIN YAPAR — 10-12

Çam (Anadolu Karaçamı) Uçucu Yağı
Pine Nigra (Anatolian Black Pine) Essential Oil
Pini nigra aetheroleum
Betül BÜYÜKKILIÇ-ALTINBAŞAK, Nihal ZORLU, Ece SEVGİ, Kevser SALİHLER, Çağla KIZILARSLAN-HANÇER, Murat KARTAL, Gülaçtı TOPÇU — 13-17

Derleme Makaleleri

Karahindiba (*Taraxacum officinale* Weber ex Wiggers) Bitkisinin Botanik Özellikleri, Kimyasal Bileşimi ve Geleneksel Tedavide Kullanılışı
The Botanical Features, Chemical Compositions and Traditional Uses of the Dandelion (*Taraxacum officinale* Weber ex Wiggers)
Serpil DEMİRCİ KAYIRAN, Nurdan ÇAKIR, Yusuf YAKUT — 18-31

Majistral İlaçlara ve Bunların Tedavideki Yerine Güncel Bir Bakış
A Current Overview on Magistral Medicines and Their Status in Medication
Meliha GÜNEŞ, Sinem Yaprak KARAVANA, Mehmet Emre ÖZDEMİRHAN, Evren ALĞIN YAPAR — 32-42

Talasemi ve Tedavisine Genel Bir Bakış
An Overview of Talasemia and Its Treatment
Bilge Ahsen KARA, H. Sinan SÜZEN — 43-56

Grip Aşısının Güncel Kalite Kontrol Gereklilikleri
Current Quality Control Requirements of Influenza Vaccine
Mehmet ALKAN, İlhan BOZYİĞİT, Aysu YURDASİPER, Evren ALĞIN YAPAR — 57-67

Biyofarmasötik Ürünlerin Etkililik ve Güvenliliğinin Kontrolünde Kullanılan *İn Vivo* Testler
In Vivo Tests Used for Control of The Efficacy and Safety of Biopharmaceutical Products
Mehmet Emre ÖZDEMİRHAN, Hakan BÜZKAYA, İlhan BOZYİĞİT, Aysu YURDASİPER, Sümeyra TUNA YILDIRIM, Evren ALĞIN YAPAR — 68-79

Tıbbi Cihazların Kalite Kontrolünde Kullanılan Standartlar
Standards for Quality Control of Medical Devices
Serhat ALADAĞ, Evren ALĞIN YAPAR
80-90

İyi Laboratuvar Uygulamaları – İLU VE TS EN ISO/IEC 17025 Standardı ile Kıyaslamasına Güncel Bir Bakış
A Current Overview on Good Laboratory Practices-GLP and Comparison with TS EN ISO/IEC 17025 Standard
Gökhan CENGİZ, Evren ALĞIN YAPAR
91-101

Akredite Deney Laboratuvarları Ekipmanları İçin Metrolojik Gereksinimlere Genel Bir Bakış
An Overview of Metrological Requirements for Accredited Testing Laboratories Equipments
Serhat ALADAĞ, Evren ALĞIN YAPAR
102-111

Türk Farmakope Dergisi 2020, 5(3): 9

© Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu 2020

TÜRK FARMAKOPE DERGİSİ

Doç.Dr. Tolga TOLUNAY
Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu Başkanı

Türk Farmakopesi ve diğer uluslararası farmakopelerin faaliyetleri ile Kurumumuz görev alanı ve farmakope kapsamında gerçekleştirilen bilimsel ve teknik çalışmaların değerlendirilmesi amacıyla hayata geçen Türk Farmakope Dergisi; Ülkemiz sağlık endüstrisi, üniversitelerimiz, sendikalar, dernekler, ilgili kurum ve kuruluşları bilgilendirmek ve tüm paydaşlarla bilgi alışverişinde köprü oluşturmak üzere yapılan bir çalışmadır.

Türk Farmakopesi Dergisi 5. Cilt 3. Sayısı içeriğinde; Türk Farmakopesi'nde de yer alması planlanan yeni milli monograflar Doğu ladin uçucu yağı (*Piceae aetheroleum*) ve Çam (Anadolu Karaçamı) uçucu yağı (*Pini nigra aetheroleum*), milli monograflar için bitkisel kaynaklara dair çalışmalar kapsamında Karahindiba (*Taraxacum officinale* Weber ex Wiggers) bitkisi hakkında bir derleme makalesi ile diğer çalışmalar olarak majistral ilaçlar ve tedavideki yeri, talasemi ve tedavisi, grip aşısının güncel kalite kontrol gereklilikleri, biyofarmasötik ürünlerin etkililik ve güvenliliğinin kontrolünde kullanılan *in vivo* testler, tıbbi cihazların kalite kontrolünde kullanılan standartlar, İyi Laboratuvar Uygulamaları (İLU) ile akredite deney laboratuvarlarında metrolojik gereksinimler hakkında makaleler yer almaktadır.

Dergimiz yayın kuruluna, bilim kuruluna, yazarlara ve makale hakemlerine teşekkürlerimi ileterek dergimizin yeni sayısının yararlı olmasını diliyorum.

T.C. SAĞLIK BAKANLIĞI
TÜRKİYE İLAÇ VE TIBBİ CİHAZ KURUMU

MİLLİ MONOGRAF

Türk Farmakope Dergisi 2020, 5(3): 10-12
© Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu 2020

DOĞU LADİN UÇUCU YAĞI

Temel ÖZEK[1,2*], Gülmira ÖZEK[1], Mehmet Emre ÖZDEMİRHAN[3], Evren ALĞIN YAPAR[3]

1. Anadolu Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi Farmakognozi ABD, 26470, Tepebaşı-Eskişehir.

   elmek*: tozek@anadolu.edu.tr

2. Anadolu Üniversitesi, Bitki, İlaç ve Bilimsel Araştırmalar Uygulama ve Araştırma Merkezi (AÜ-BİBAM), 26470, Tepebaşı-Eskişehir.

3. T.C. Sağlık Bakanlığı, Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu, Analiz ve Kontrol Laboratuvarları Dairesi Başkanlığı, 06430, Sıhhiye-Ankara.

Geliş tarihi: 27.08.2020 / Kabul tarihi: 08.09.2020

TFB-01/2020:XXXXX

DOĞU LADİN UÇUCU YAĞI

ORIENTAL SPRUCE ESSENTIAL OIL

Piceae aetheroleum

TANIM

Picea orientalis (L.) Peterm. (Pinaceae) taze yapraklarından buhar distilasyonu ile elde edilen uçucu yağ.

ÖZELLİKLER

Görünüm: berrak, sarı renkli, karakteristik aromatik kokulu sıvı.

TANIMA

A. Kromatografik görünüm testinde elde edilen kromatogramlar incelenir.

TESTLER

Bağıl yoğunluk (*2.2.5*): 0.9090 - 0.9690.

Kırılım imleci (*2.2.6*): 1.4560 - 1.4770.

Kromatografik görünüm. Gaz kromatografisi (*2.2.28*) standart yöntem kullanılır.

Test çözeltisi: 10 μL uçucu yağ 100 μL *hekzan R* içinde çözülür.

Şahit çözelti: 20 μL *α-pinen R*, 10 mg *kamfen R*, 20 μL *β-pinen R*, 20 μL *limonen R*, 10 μL *bornil asetat R*, 10 μL *β-karyofillen R*, 10 mg *α-kadinol R,* 1 mL *hekzan R* içinde çözülür.

Kolon:

- *malzeme:* silika;
- *boyut: ℓ* = 60 m, Ø = 0.25 mm;
- *sabit faz: makrogol 20 000 R* (0.25 mm).

Taşıyıcı gaz: kromatografik azot R veya *kromatografik helyum R.*

Akış hızı: 0.7 mL/dk.

Bölünme oranı: 1:40.

Sıcaklık:

	Zaman (dk.)	Sıcaklık (°C)
Kolon	10	60
		60→220 (4°C/dk.)
	10	220
		220→240 (1°C/dk.)
Enjeksiyon yuvası		250
Dedektör		300

Tespit: alevli iyonlaştırma.

Enjeksiyon: 1.0 μL.

Ayırım sırası: şahit çözeltinin bileşimindeki sırayla görülür. Bu maddelerin alıkonma zamanları kaydedilir.

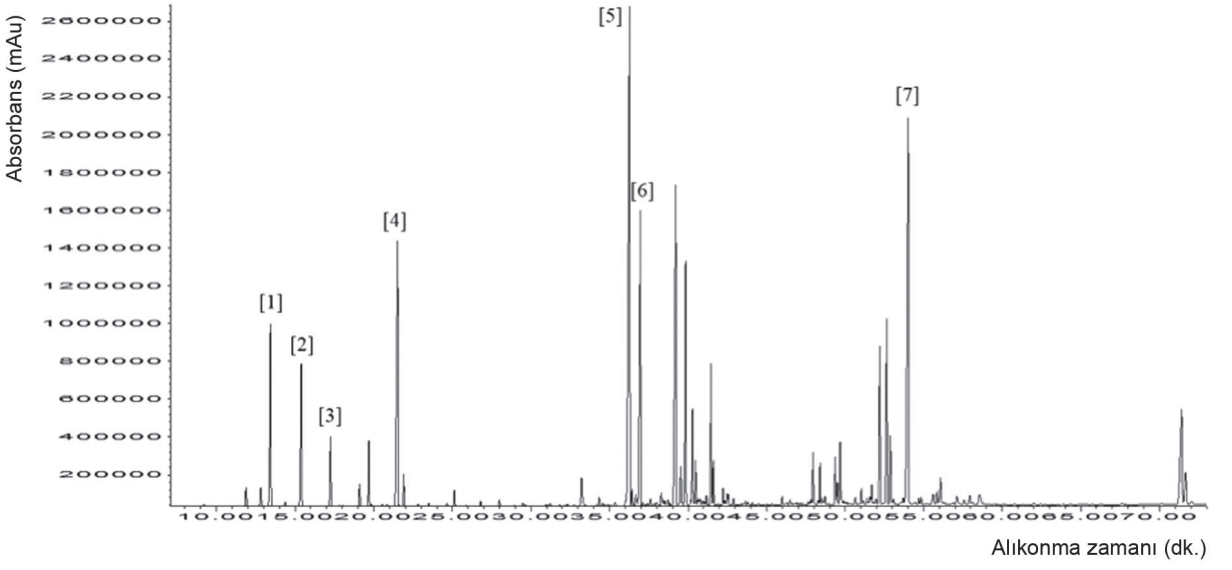
Sistem uygunluğu: şahit çözelti:

- *ayırım gücü: α-pinen* ve *kamfen* pikleri arasında en az 1.5.

Bileşiklerin tanımlanması: şahit çözelti ile elde edilen kromatogramda tespit edilen alıkonma zamanları kullanılarak, test çözeltisi ile elde edilen kromatogramda şahit çözeltisinin bileşenlerinin

yeri belirlenir (Şekil 1). Dedektörde tespit edilen tüm pik alanları üzerinden bileşiklerin yüzdesi hesaplanır. Yüzde miktarları aşağıdaki aralıklar içerisindedir:

- *α-pinen:* %2.0 - 15.0;
- *kamfen:* %1.0 - 15.0;
- *β-pinen:* %1.0 - 15.0;
- *limonen:* %5.0 - 25.0;
- *bornil asetat:* %5.0 - 35.0;
- *β-karyofillen:* %2.0 - 10.0;
- *α-kadinol:* %3.0 - 20.0.



[1] α-pinen [2] kamfen [3] β-pinen [4] limonen [5] bornil asetat [6] β-karyofillen [7] α-kadinol

Şekil 1. *Picea orientalis* uçucu yağı kromatogramı.

SAKLAMA

Doğrudan güneş ışığından uzak serin yerde saklanır.

TEŞEKKÜR

Doğu Ladin Uçucu Yağı Monografı çalışmasında bitkisel materyal teminindeki desteklerinden ötürü Artvin Orman Bölge Müdürlüğü Odun Dışı Ürün ve Hizmetler Şube Müdürlüğü ile Trabzon Orman Bölge Müdürlüğü Odun Dışı Ürün ve Hizmetler Şube Müdürlüğü'ne teşekkürlerimizi sunarız.

T.C. SAĞLIK BAKANLIĞI
TÜRKİYE İLAÇ VE TIBBİ CİHAZ KURUMU

MİLLİ MONOGRAF

Türk Farmakope Dergisi 2020, 5(3): 13-17

© Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu 2020

ÇAM (ANADOLU KARAÇAMI) UÇUCU YAĞI

Betül BÜYÜKKILIÇ-ALTINBAŞAK[1], Nihal ZORLU[2], Ece SEVGİ[1]*, Kevser SALİHLER[2], Çağla KIZILARSLAN-HANÇER[1], Murat KARTAL[2,3], Gülaçtı TOPÇU[3]

1. Bezmialem Vakıf Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Botanik ABD, Adnan Menderes Bulvarı, 34093, Fatih-İstanbul.

   elmek*: esevgi@bezmialem.edu.tr

2. Bezmialem Vakıf Üniversitesi, Fitoterapi Eğitim, Uygulama ve Araştırma Merkezi (BİTEM), Bican Bağcıoğlu Yokuşu, Adnan Menderes Bulvarı, 34093, Fatih-İstanbul.

3. Bezmialem Vakıf Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmakognozi ABD, Adnan Menderes Bulvarı, 34093, Fatih-İstanbul.

Geliş tarihi: 02.09.2020 / Kabul tarihi: 11.09.2020

TFB-01/2020:XXXXX

ÇAM (ANADOLU KARAÇAMI) UÇUCU YAĞI

PINE NIGRA (ANATOLIAN BLACK PINE) ESSENTIAL OIL

Pini nigrae aetheroleum

TANIM

Pinus nigra subsp. *pallasiana* (Lamb.) Holmboe bitkisinin parçalanmış taze yapraklarından buhar distilasyonu yöntemiyle elde edilen uçucu yağ.

ÖZELLİKLER

Görünüm: şeffaf ya da sarımsı, akışkan, berrak sıvı.

Karakteristik kokulu.

TANIMA

İlk tanıma: *A*.

İkinci tanıma: *B*.

A. İnce tabaka kromatografisi (*2.2.27*).

Test çözeltisi: incelenecek olan 100 µL karaçam uçucu yağı örneği 1 mL *toluen R* içerisinde çözülür.

Şahit çözelti: 10 µL *bornil asetat R* 1 mL *toluen R* içerisinde çözülür ve aynı çözücü ile 10 mL'ye seyreltilir.

Plak: *İTK slikajel 60 F_{254} plak R*.

Hareketli faz: *etil asetat R, toluen R* (5:95 *h/h*).

Uygulama: 10 µL test çözeltisi ve şahit çözelti.

Sürüklenme: 6 cm'nin üzerinde bir ilerleme.

Kurutma: havada.

Tespit: anisaldehit çözeltisi R püskürtülür, 100-105 °C'de 5-10 dk. ısıtılır, gün ışığında incelenir.

Sonuçlar: test çözeltisi ile elde edilen kromatogramdaki esas lekeler şahit çözelti ile elde edilen kromatogramdaki esas lekeler ile benzer yerdedir.

Plağın üstü	
	Pembe bir leke (hidrokarbonlar)
Bornil asetat: Kahverengi veya gri-kahverengi bir leke	Kahverengi veya gri-kahverengi bir leke
	Pembe bir leke
	Bir grup mor leke
Şahit çözelti	**Test çözeltisi**

B. Gaz kromatografisi (*2.2.28*).

Test çözeltisi ile elde edilen kromatogram ile referans olarak verilen kromatogram benzerlik göstermelidir (Şekil 1).

TESTLER

Bağıl yoğunluk (*2.2.5*): 0.855 - 0.864.

Asit değeri (*2.5.1*): en fazla 1.0.

Kırılım imleci (*2.2.6*): 1.4724 – 1.4817.

Optik çevirme (*2.2.7*): -30,91° – -41,11°.

Sabit yağlar ve reçineleşmiş uçucu yağlar (*2.8.7*): Test ile uyumludur.

Kromotografik görünüm. Gaz kromatografisi (*2.2.28*):

Test çözeltisi. İncelenecek olan numunenin 200 µL'si *heptan R* ile 10 mL hacme seyreltilir.

Şahit çözelti: 5 µL *α-pinen R,* 5 mg *kamfen R*, 5 µL *β-pinen R,* 5 µL *mirsen R*, 5 µL *limonen R*, 5 mg *sabinen R*, 5 mg α-*terpinolen R*, 5 µL *bornil asetat R*, 5 mg *karyofilen R*, 5 µL *humulen R*, 5 mg *germakren D R*, 5 µL δ-*kadinen R*, 10 mL hacme *heptan R* ile seyreltilir.

Kolon:

– *malzeme*: kaynaşmış silika;

– *boyut*: *ℓ* = 60 m, *Ø* = 0.25 mm, film kalınlığı = 0.25 µm;

– *sabit faz*: polietilen glikol (ortalama moleküler ağırlık 18 000).

Taşıyıcı gaz: *kromatografik helyum R*.

Akış hızı: 1.5 mL/dk.

Sıcaklık:

	Zaman (dk.)	**Sıcaklık (°C)**
Kolon	0-15	70
	15-85	70→230
	85-100	180
Enjeksiyon yuvası		250
Dedektör		220

Tespit: alevli iyonlaştırma.

- *hidrojen gaz akışı*: 30 mL/dk.
- *kuru hava gaz akışı*: 400 mL/dk.
- *enjeksiyon hacmi*: 1 µL.
- *ayrılma oranı*: 1/100.

Ayırım sırası: şahit çözeltinin bileşiminde görülen sıradadır.

Sistem uygunluğu: şahit çözelti.

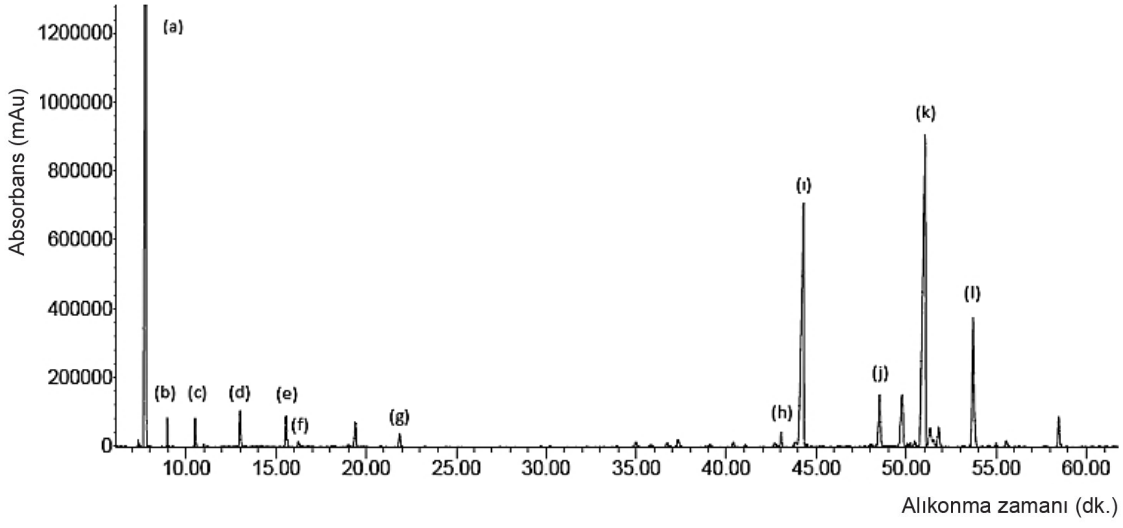
- *ayırım gücü*: α-*pinen* ve *kamfen* pikleri arasında en az 0.5.

Aşağıda listelenen her bir bileşenin yüzde içeriği belirlenir. Yüzdeler belirtilen aralıktadır:

- α-*pinen*: %35.0 - 58.0;
- *kamfen:* %0.6 - 1.5;
- β-*pinen*: %0.8 - 24.0;
- *mirsen:* %0.6 - 2.2;
- *limonen:* %1.0 - 4.0;
- *sabinen*: en fazla %1.0;
- α-*terpinolen*: en fazla %1.5;
- *bornil asetat:* en fazla %2.5;
- *karyofilen:* %5.0 - 16.0;
- *humulen* %1 - 3.0;
- *germakren D*: %8.0 - 25.0;
- δ-*kadinen*: en fazla %8.0.

SAKLAMA

Işıktan koruyarak 25 ˚C'yi aşmayan sıcaklıkta saklanır.



Şekil 1. Anadolu karaçamı uçucu yağı alev iyonlaşmalı gaz kromatografisi (GC-FID) kromatogramı;

(a) α-pinen (b) kamfen (c) β-pinen (d) mirsen (e) limonen (f) sabinen (g) α-terpinolen (h) bornil asetat (ı) karyofilen (j) humulen (k) germakren D (l) δ-kadinen.

T.C. SAĞLIK BAKANLIĞI
TÜRKİYE İLAÇ VE TIBBİ CİHAZ KURUMU

DERLEME MAKALESİ

Türk Farmakope Dergisi 2020, 5(3): 18-31
© Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu 2020

KARAHİNDİBA (*Taraxacum officinale* Weber ex Wiggers) BİTKİSİNİN BOTANİK ÖZELLİKLERİ, KİMYASAL BİLEŞİMİ VE GELENEKSEL TEDAVİDE KULLANILIŞI

Serpil DEMİRCİ KAYIRAN[1]*, Nurdan ÇAKIR[2], Yusuf YAKUT[2]

1. Çukurova Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Botanik ABD, 01330, Adana.

elmek*: sdemirci@cu.edu.tr

2. Çukurova Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, 01330, Adana.

Geliş tarihi: 08.07.2020 / Kabul tarihi: 28.07.2020

ÖZET

Karahindiba (*Taraxacum officinale)* Avrupa, Asya, Afrika kıtalarında doğal olarak yayılış gösteren bir türdür. Karahindiba yaprak ve köklerinin, Avusturya Farmakopesi, Çek Farmakopesi, İngiliz Bitki Farmakopesi, Martindale Avrupa Bilimsel Fitoterapi Kooperatifi (Escop) Monografları ve Dünya Sağlık Örgütü (WHO) Monograflarına kayıtlı drogları bulunmaktadır. Bitki tarihçileri tarafından en az bin yıldır geleneksel tıbbın önemli bir bileşeni olduğu kabul edilmektedir. Geleneksel olarak karahindiba kökleri ve yaprakları, diüretik etkiyle, safra salgısını arttırmak amacı ile, iştah açıcı ve dispepsi tedavisinde kullanılmaktadır. Karahindiba kök ve yaprakları flavonoitler, fenolik asitler, kumarinler, terpenoitler, karotenoitler ve fitosteroller gibi majör bileşikler taşımaktadır. Bu çalışmada karahindiba bitkisinin botanik özellikleri, kimyasal bileşimi ve geleneksel tedavide kullanılışı üzerinde durulacaktır.

Anahtar Kelimeler: *Taraxacum officinale,* Karahindiba, Geleneksel tedavi, Tıbbi bitki.

THE BOTANICAL FEATURES, CHEMICAL COMPOSITIONS AND TRADITIONAL USES OF THE DANDELION *(Taraxacum officinale* Weber ex Wiggers)

ABSTRACT

The dandelion (*Taraxacum officinale*) is distributed to Europe, Asia, Africa naturally. Some drugs of leaves and roots of dandelion are registered in Austrian Pharmacopoeia, Czech Pharmacopoeia,

British Plant Pharmacopoeia, Martindale, European Scientific Cooperative on Phytotherapy (ESCOP) monographs, World Health Organization (WHO) monographs. It has been recognized by plant historians as an important drug of traditional medicine for at least a thousand years. The use of leaves and roots have been traditionally used in the treatment of as appetizing and dyspepsia with the aim of increasing bile secretion by diuretic effect. Flavonoids, phenolic acids, coumarins, terpenoids, carotenoids and phytosterols were identified as the major phenolic compounds responsible for the bioactivity in researches. The botanical features, chemical composition, traditional medicinal uses of the dandelion was focused in this study.

Keywords: *Taraxacum officinale*, Dandelion, Traditional therapy, Medicinal plant.

GİRİŞ

Taraxacum officinale Weber ex Wiggers (Compositae) doğa koşullarını geniş bir yelpazede tolere edebilen, çayırlar, çimler, yol kenarları, bahçeler, meyve bahçeleri ve çorak arazilerde yayılış gösteren bir türdür [1,2]. Deniz seviyesinden 1000 m yüksekliğe kadar nemli toprağı olan diğer alanlarda da ortaya çıkabilir. Altın sarısı renkli çiçekleri tek olarak doğrudan kökten çıkar [3]. Türkiye Florasında *Taraxacum* cinsi 55 tür ile temsil edilmektedir [4]. *T. officinale* Türkiye'de doğal olarak yayılış gösteren türlerden biri değildir [5]. Yüzyıllardır insanların çeşitli hastalıkların tedavisinde kullandığı karahindiba, Grekçeden köken alan enflamasyon anlamına gelen "taraxis" ve tedavi edici anlamına gelen "akeomai" kelimelerinden oluşmaktadır. *T. officinale* Arapça'da acı ot anlamına gelir ve Yunanca'da ataraksi (göz bozukluğu) kelimesinden türetilmiştir. İngilizce ismi olan "*dandelion*", Fransızca "*dent de lion*", "*aslan dişi*" anlamına gelir [1,2,6]. *Taraxacum* türleri ülkemizde aslan dişi, gelin göbeği (Aksaray-Niğde), keklik otu, radika (Antalya- İzmir) şeytan arabası gibi yöresel adlarla bilinmektedir. Yaprakları Antalya yöresinde salata halinde veya pişirilerek yenmektedir [6]. Karahindiba tıbbi etkilerinden dolayı birçok Monograf ve Farmakopede yer almaktadır [7]. Bitkinin toprak üstü kısımları ve kökleri diüretik etkisinden dolayı safra salgısını artırmak amacıyla, iştah açıcı olarak ve dispepsi tedavisinde kullanılmaktadır [8-11]. *T. officinale* türünün çeşitli kısımları üzerinde yapılan fitokimyasal çalışmalarda, organik asitler, flavonoitler, kumarinler, terpenoitler, karotenoitler, fitosteroller, seskiterpenlaktonlar, lignanlar, fenolik asitler, inülin, fruktoz, yağ asitleri, A, B, C, D vitaminleri, potasyum ve müsilaj gibi çeşitli organik maddeleri taşıdığı rapor edilmiştir. Tedavi edici özelliğinin, yapısında bulunan seskiterpenlerden ve acı maddelerden kaynaklandığı bildirilmiştir. Karahindiba %5'e varan oranıyla en iyi doğal potasyum kaynaklarından biridir. A vitamini ve C vitamini ile nikotinik asit yönünden de zengindir [12]. *T. officinale* türünün kök ve toprak üstü kısımları kullanılarak yapılan çeşitli aktivite çalışmalarında, antioksidan, antienflamatuvar, antimikrobiyal, diüretik, antikanser, antiülser, antikoagülan ve antitrombotik, prebiyotik, karaciğerden safra salgısında artış ve hipoglisemik aktivite etkinlikleri araştırılmıştır [12].

Derleme özelliğindeki bu çalışmada *T. officinale* (karahindiba) bitkisinin botanik özellikleri, kimyasal bileşimi ve geleneksel tedavide kullanılışı üzerinde durulacaktır.

1. BOTANİK ÖZELLİKLERİ

T. officinale 5-30 cm boyunda, çok yıllık otsu bir bitkidir. Toprak içindeki uzun, düz, incelen, etli, kahverengi kökleri üstünde basit veya dallanmış rizomludur. Köklerin uzunluğu 60-100 cm olabilir. Yapraklar 5 - 40 cm x 0.7 - 15 cm boyutlarında, rozet şeklinde, dar, serrat, parlak koyu yeşil renkte, tüysüz, kılsı çıkıntılıdır [3]. Çiçek sapı dik, 5-40 cm, tek, terminal bir çiçek taşır. Kapitulum 3-5 cm çapında, düz, tek, altın sarısı ve ligulat çiçeklerden oluşur. Epikaliks dikdörtgensi-çan şeklindedir. Petalleri üç imbrikat sıralıdır ve iki tanesi geriye kıvrıktır. Meyve küçük, uzun gagalı, açık gri-kahverengi, çıkıntılı ve paraşüt şeklinde püsküllü veya tüylüdür. Meyve olgunlaşınca, tepesinde bulunan ve şemsiyeye benzeyen papusu sayesinde rüzgârla uçar ve dağılır. Mart-Ekim aylarında çiçeklenir. Karahindiba kuzey yarım kürenin ılıman yerlerinde dağılım gösteren otsu yenebilen çok yıllık bir bitkidir [3]. Karahindiba esas olarak çayırlar, çimler, yol kenarları, bahçeler, meyve bahçeleri ve çorak arazilerde yetişir [5]. Doğa koşullarını geniş bir yelpazede tolere edebilmesine rağmen, humus, kalsiyum ve su bakımından zengin topraklar ile rüzgârdan korunaklı alanlarda en iyi şekilde büyüdüğü düşünülmektedir. Deniz seviyesinden 1000 m yüksekliğe kadar nemli toprağı olan diğer alanlarda da ortaya çıkabilir. Ayrıca 1200–1500 m rakımlarda serin dağlık tropik bölgelerde görülür [4,5]. Bitkinin tüm organlarında bulunan özel latimer hücreler lateks üretir. Özellikle Taraxacum kok-saghyz (köksakız), lateks taşıması nedeniyle kauçuk elde etmek için Rusya'da yetiştirilen bir türdür.

2. DÜNYA'DA VE TÜRKİYE'DEKİ ETNOBOTANİK KULLANIMI

Yapılan birçok etnobotanik araştırma ile *T. officinale* türünün kök ve topraküstü kısımlarının halk arasında çeşitli tıbbi kullanımlarının olduğu kaydedilmiştir. Karahindibanın X. ve XI. yüzyıllarda dispepsi, mide ekşimesi, hepatit, anoreksi, gut, diyare, su toplaması gibi rahatsızlıkların tedavisinde kullanıldığına dair bulgular kaydedilmiştir. Geleneksel Çin tıbbında karahindibanın, hepatit, üst solunum yolu enfeksiyonları, bronşit ve zatürreeye karşı bağışıklık güçlendirici olarak, mastit tedavisinde topikal bir kompres olarak kullanıldığı kayıtlıdır. Ayrıca karahindiba kök ve yaprakları, mide problemleri, apandisit, anemi, sarılık, yüksek ateş, göz problemleri, gastrointestinal problemler, osteoartrit, egzama, uterus ve meme kanseri tedavisinde, kan dolaşımından toksinleri uzaklaştırmak ve sindirim sisteminin işlevini geliştirmek için kullanılmaktadır [7,14].

Karahindiba, Amerika yerlileri tarafından diüretik olarak böbrek hastalıklarında, cilt problemleri ve mide rahatsızlıklarının tedavisinde kullanılmaktadır. Hindistan ve Rus halk hekimliğinde karahindiba, bir karaciğer toniği olarak bilinmektedir. Geleneksel Hint tıbbında kronik ülser, tüberküloz, şişkinlik, kolik, böbrek rahatsızlıkları, gut, sarılık ve safra taşı rahatsızlıklarının tedavisinde kullanılmaktadır. Avrupa'da yüksek ateş, idrar yolu enfeksiyonları, göz problemleri, diyabet ve diyare tedavisinde kullanılmaktadır. [15-17].

Karahindiba kökü tüm Dünya'da öncelikle sindirim ve karaciğer fonksiyonlarını destekleyen bir gastrointestinal ilaç olarak kabul edilmektedir. Yaprak, çiçek ve kökleri uzun yıllardan bu

yana ateş düşürücü olarak, boğaz ağrısı ve mide ekşimesi tedavisinde kullanılmaktadır [13]. Ayrıca geleneksel tıpta kan temizleyici olarak egzama ve çeşitli cilt hastalıklarının tedavisinde de kullanılmıştır. Karahindiba halk arasında laksatif, tonik, ateş düşürücü olarak; diyabet, göz enfeksiyonu, insomnia, boğaz ağrısı, akciğer rahatsızlıkları, sarılık, gut, böbrek taşı şikâyetleri, karaciğer ve safra kesesi rahatsızlıkları, romatizma ve idrar yolu enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılmaktadır. Hafif müshil, idrar ve safra söktürücü etkileri nedeniyle dâhilen infüzyonu (%5) ve taze bitkiden hazırlanan dekoksiyonu kullanılmaktadır [8-11].

Karahindibanın en az bin yıldır geleneksel tıbbın önemli bir bileşeni olduğu bilinmektedir. Ege ve Güney Marmara Bölgesinde radika olarak bilinen *Taraxacum* türleri diyabet, kolesterol, göz enfeksiyonu, mide kanseri, akciğer ve karaciğer hastalıkları, sarılık, gut, romatizma gibi çeşitli hastalıkların tedavisinde, kan dolaşımını artırıcı, idrar söktürücü, ateş düşürücü ve kan temizleyici olarak kullanılmaktadır. Ayrıca egzama gibi dermatolojik rahatsızlıklarda kullanıldığı kayıtlıdır [18,19].

3. KİMYASAL BİLEŞİMİ

T. officinale bir bütün olarak kullanılabildiği gibi yaprak, kök ve çiçekleri farklı kimyasal bileşime sahip olduğundan ayrı ayrı da değerlendirilebilir [16]. Kök, esas olarak kloretik etkileri olan acı bir drogdur. Biyolojik olarak aktif bileşikleri, seskiterpenlaktonları, safra arttırıcıdır. Ayrıca, taraksik asit glikoziti pankreas salgı fonksiyonları ve sindirim üzerine etkilidir [20]. Köklerinin özlerinde tetrahidroridentin B ve taraksakolit-*O*-β-glukopiranozit dâhil olmak üzere bir dizi seskiterpen bulunur [21]. Seskiterpen laktonlardan guayanolitler, 11β,13-dihidrolaktusin, ikserin D ve üç germakranolit esterleri, taraksinik asit-glukopiranosit, 11β,13-dihidro-türevi ve ainsliosit tanımlanmıştır [16,22]. *T. officinale* köklerinden butirolakton glikozit bildirilmiştir [23]. Köklerinden izole edilen diğer bileşenler arasında triterpenlerden taraksasterol, taraksokozit, Ψ-taraksasterol ve asetatları,16-hidroksi türevleri arnidol ve faradiol, β-amirin, 3-hidroksil-lup-18-en-21-on bulunur. Ayrıca sikloartenol; sterollerden stigmasterol, β-sitosterol, taraksol ve tarakserol gibi çeşitli terpenoidler bulunur [16]. Ayrıca, yapısında fenolik asitlerden kikorik asit ve izomeri, monokaffeoiltartarik, 4-seffeoilkinik, klorojenik, kafeik asit, p-kumarik asit, ferulik asit, p-hidroksibenzoik asit, protokateşik asit, vanilik asit, p-hidroksifenilasetik asit, üç kumarin, umbelliferon, eskuletin ve roketin bulunmuştur. Karahindiba kökleri müsilaj, fruktoz, glukoz ve sakkaroz gibi karbonhidratları taşımaktadır. Ayrıca kökler Compositae familyasının karakteristik depolama karbonhidratı olan zengin bir inülin kaynağıdır [16]. Köklerin inülin içeriği %2-40 arasında değişmektedir [16]. İnülinler β-(2-1)-glikozidik bağlarla fruktoza bağlı olan zincirlerdir ve inülin tipi fruktanlar sindirilemeyen oligosakkarit (prebiyotik) olarak sınıflandırılmıştır. Yapılan bir çalışmada bitkinin şeker içeriğinin mevsime bağlı değişim gösterdiği, ilkbaharda fruktoz miktarı artarken, Haziran ve Ağustos aylarında polimerleşmiş şekerlerin arttığı bildirilmiştir [7].

Köklere oranla, karahindiba yaprakları daha yüksek polifenol içeriği taşımaktadır. Yapraklarının acı tadı, iki seskiterpentaraksinik asit d-glukopiranosit ve 11,13-dihidrotaksinik asit-d-glukopiranositin yanı sıra p-hidroksifenilasetik asit ve sitosterollerden kaynaklanmaktadır. Yapraklarda ve çiçeklerde en bol bulunan fenolik bileşikler hidroksisinnamik asit, klorojenik, dikafeoiltartarik (kikorik asit) ve monokaffeoil tartarik asitler gibi kafeik asit esterleridir. Luteolin 7-*O*-rutinozit ve 4-*O*-glukozit, izorhamnetin, kersetin ve apigenin 7-*O*-glukozit, izoramnetin-3-*O*, 3,7-di-*O*-glukozit gibi çeşitli flavonoit glikozitler, karahindiba yaprak ve çiçek özütünde mevcuttur. Yaprak özütünde, kumarinler (kikorin ve eskulin) tanımlanmıştır. Yapraklarda (%4.89 kuru madde) ve sapta (%7.73 kuru madde) yüksek potasyum içeriği dikkat çekicidir [16]. Soxhlet yöntemi kullanılarak karahindiba yapraklarının toplam yağ asidi içeriğinin sırasıyla palmitik asit, linolenik asit ve linoleik olduğu belirlenmiştir. Daha az miktarlarda stearik, oleik, miristik ve araşidonik asitler de tespit edilmiştir [24].

Karahindiba %5'e varan yüksek oranıyla en iyi doğal potasyum kaynaklarından biridir. A vitamini, C vitamini ve nikotinik asit ile türlü mineraller yönünden de zengindir. Bu nedenle yaprakları salatalara katılıp yenir. Kökü de taze halde doğranıp salatalara katılır. Kurutulan kökü birçok ülkede öğütülüp acı hindiba kahvesi olarak içilir [8]. Özet olarak karahindiba; flavonoitler, organik asitler, kumarinler, terpenoitler, karotenoitler ve fitosterolleri taşımaktadır [7].

4. FARMAKOLOJİK ÖZELLİKLERİ

4.1. Antikanser Aktivite

T. officinale Çin, Arap ve Amerikan yerlilerinin geleneksel tıbbında kanser de dâhil olmak üzere çeşitli hastalıkları tedavi etmek için kullanılmasına rağmen bugüne kadar türün antikanser aktivitesi hakkında çok az çalışma bildirilmiştir. Yapılan bir araştırmada, karahindibanın olgun yaprak, çiçek ve köklerinden üç sulu özüt hazırlanmış ve yaprak özütünün, MCF-7/AZ meme kanseri hücrelerinin büyümesini azalttığı görülmüştür. Ayrıca, karahindiba kök sulu özütünün MCF-7/AZ meme kanseri hücrelerinin istilasını bloke ettiği, karahindiba yaprağının LNCaP prostat kanseri hücrelerinin kollajen tip I'e istilasını engellediği bulunmuştur [25]. *T. officinale* tüm bitki etanolik özütünün insan meme kanseri üzerindeki sitotoksik aktivitesini saptamak amacıyla (MCF-7) insan meme kanser hücreleri *in vitro* MTT tahlil kullanarak insan normal hepatik (WRL-68) hücreleri ile karşılaştırılmıştır. *T. officinale* özütünün, insan normal hücrelerine kıyasla kanser hücreleri üzerinde güvenli ve seçici aktiviteye sahip değerli bir antikanser ilaç kaynağına sahip olduğu bildirilmiştir [26]. *T. officinale* özütünün meme kanseri hücreleri üzerinde doza bağımlı bir şekilde sitotoksik etkiye sahip olduğu görülmüştür. Bu çalışma, *T. officinale*'nin, normal insan hepatik hücreleri üzerinde toksik etkisi olmadığı ve insan meme kanseri hücresi üzerinde yüksek bir inhibitör etkiye sahip olduğunu göstermiştir [26]. Koo ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, *T. officinale*'nin tümör nekroz faktörü α (TNF-a) ve interlökin (IL) salgısı yoluyla insan

hepatom (HepG2) hücrelerinin apoptozunu indüklediği belirlenmiştir. Taraksasterol, tümör hücresi canlılığında %26 oranında doza bağlı bir azalma sağlayan antikanser ve antitümör özelliklere sahip bir etken maddedir [27].

Karahindiba kök özütünün agresif ve dirençli pankreas kanser hücreleri üzerindeki etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, özütün doz/zamana bağlı seçici apoptozu indüklediği belirlenmiştir. Karahindiba kök özütü, mitokondriyal membran potansiyelinin çökmesine neden olarak otofajinin oluşmasını sağlamıştır. Bu çalışmada kök özütünün kanserli olmayan hücreler üzerinde anlamlı bir etkisinin olmadığı ve insan pankreas kanseri hücrelerinde apoptoz ve otofaji indükleme potansiyeline sahip olduğu gösterilmiştir [28].

4.2. Antienflamatuvar Aktivite

Seo ve arkadaşları (2005) tarafından yapılan bir çalışmada karahindiba yaprağı özütünün, sıçanlarda kolesistokinin kaynaklı akut pankreatite karşı koruma sağlayabilecek antienflamatuvar özelliklere sahip olduğu gösterilmiştir [29]. Yan ve arkadaşlarının (2012), yaptıkları bir çalışmada taraksasterolün lipopolisakkarit kaynaklı makrofajlarda nitrik oksit (NO), prostaglandin E2, TNF-a, IL-1β ve IL-6'yı inhibe ettiğini ve sitoplazmadan çekirdeğe LPS'nin neden olduğu nükleer faktör κB (NF-κB) translokasyonunu önlediği belirlenmiştir [30]. Bu sonuçlar taraksasterolün, protein-enflamatuvar gen ekspresyonunu düzenleyen NF-κB yolunu bloke etmesiyle antienflamatuvar etkisini göstermektedir. Karahindiba metanolik özütünün (IC50 157.6 ug/mL) makrofajlarda in vitro denenmesiyle lipopolisakkarit (LPS) ile oluşturulan iltihaplanmayı bastırdığı ve hem lipit peroksidasyonunda hem de iltihaplı sinyallemede azalma sağladığı belirlenmiştir [31]. Taraksasterolün makrofajların enflamasyon tepkisini bastırdığı ve LPS kontrolüne nispeten nitrik oksit sentezi ve COX2 ekspresyonunu bastırdığı görülmüştür [31]. Metanollü özütünde kikorik asit ve luteolin miktarının daha fazla olması sulu özütüne göre etki gücünün daha fazla olmasını açıklamaktadır [31].

T. officinale yapraklarının antienflamatuvar etkisinin etkinliğini araştırmak için yapılan bir çalışmada metanol özütünün, LPS'nin neden olduğu NO, pro-enflamatuvar sitokinlerin ve PGE2'nin doza bağlı bir şekilde üretimini inhibe ettiği belirlenmiştir [32,33].

4.3. Antibakteriyel Aktivite

Sohail ve arkadaşları (2014) tarafından yapılan bir çalışmada *T. officinale* bitkisinin yaprak özütlerinin seçilen farklı bakteri suşlarına karşı antibakteriyel aktivitesi araştırılmıştır [34]. Metanol ve kloroform özütlerinin test edilen tüm bakteriyel patojenlere (*P. aeruginosa, E. coli, S. aureus, Bacillus subtilis ve Micrococcus luteus*) karşı etkili olduğu ve distile su özütlerinin hiçbir aktivite göstermediği bulunmuştur. Yapılan farklı fitokimyasal analiz sonuçları, antibakteriyel

etki sağlayabilecek olan alkaloitler, tanenler ve flavonoitler gibi sekonder metabolitlerin varlığını göstermektedir [34]. *T. officinale* yapraklarının organogenez yöntemiyle mikro çoğaltımı yapılarak hazırlanan etanol ve kloroform özütleri 9 bakteri türüne karşı (*S. aureus, E. coli, Bacillus cereus, B. subtilis, Salmonella typhimurium, Proteus vulgaris, Enterobacter cloacae, Enterococcus faecalis ve Kocuria rhizophila*) analiz edilmiştir. Sonuç olarak, *T. officinale*'nin etanol özütleri, sırasıyla *E. coli* ve *P. vulgaris*'e karşı 21 mm ve 23 mm inhibisyon zonları oluşturmuş ancak gram negatif bakteriler üzerinde zayıf etkili bulunmuştur [34].

T. officinale özütlerinin antibakteriyel etkileri dört üropatojenik bakteriye karşı değerlendirilmiştir. Özütlerin *S. aureus'un* büyümesini %89 oranında inhibe ettiği ve gram-pozitif için gram-negatif suşlardan daha etkili bir inhibitör olduğu ortaya konmuştur [24]. *T. officinale* yapraklarının sulu ve alkollü özütlerinin farklı mikroorganizmalar üzerindeki etkisi incelenmiş, 0.5 mg/mL konsantrasyonun üzerinde etkili olduğu bulunmuştur. Özellikle alkolik özütlerin gram negatif *E. coli* üzerinde sulu özütten daha etkili olduğu ve 0.1 mg/mL'den daha az ise herhangi bir mikroorganizmayı inhibe etmediği görülmüştür [35]. Karahindiba bitkisi ile ülkemizde yapılan bir çalışmada ise standardize karahindibanın standart ve bir klinik *S. aureus* suşuna karşı antimikrobiyal etkinlik gösterdiği tespit edilmiştir [36].

4.4. Diüretik Aktivite

T. officinale geleneksel halk tıbbında ve Avrupa, Asya ve Amerika'da modern fitoterapide diüretik etkisinden dolayı yaygın bir şekilde kullanılmaktadır [37]. *T. officinale*'nin yaprak hidroetanolik özütü ile yapılan bir araştırmada, idrar sıklığı ve hacmi üzerinden diüretik aktivitesi araştırılmıştır [37]. İdrar çıkış hacmi ve sıvı alımı kaydedilmiş, üriner frekans ve atılım oranı (idrara çıkma hacmi: sıvı alımı) için başlangıç değerleri, karahindiba dozlamasından (8 mL / günde 3 kere) 2 gün önce belirlenmiş ve 1 günlük bir dozlama periyodu boyunca ve dozlamadan 24 saat sonra izlenmiştir. Tüm popülasyonda (n = 17), ilk dozdan sonraki 5 saatlik sürede idrara çıkma sıklığında önemli bir ($p < 0.05$) artış gözlenmiştir. İkinci özüt dozundan sonraki 5 saatlik sürede atılım oranında da önemli bir artış ($p < 0.001$) olmuştur. Üçüncü doz, ölçülen parametrelerin herhangi birini değiştirmemiştir. Bu verilere dayanarak, *T. officinale* taze yaprağının (1 g: 1 mL) etanolik özütünün, sağlıklı insan deneklerde sıvıların sıklığını ve atılım oranını arttırdığı gösterilmiştir [37].

4.5. Antioksidan Aktivite

Oksidatif stres, DNA, lipitler ve proteinler gibi hücresel bileşenlerde hasara neden olarak metabolik bir bozukluğa sebep olabilirler. Memelilerde tüketilen oksijenin %2'si reaktif oksijen türü (ROS) haline gelir. ROS hidroksil radikallerini, süperoksit radikallerini, tekli oksijeni ve peroksit radikallerini içerir, bunlar insanda çeşitli kanser veya diğer hastalıklara neden olabilir

[38]. Karahindiba çiçekleri potansiyel flavioksidan kaynaklardır ve flavonoitler, kumarik asit ve askorbik asit gibi zengin fenolik bileşenler taşırlar. Karahindiba yaprak özütleri hidrojen peroksit temizleyici ve indirgeyici ajanlardır [38]. Hagymasi ve arkadaşları (2000), karahindiba yaprağı ve kökünden elde edilen özütlerin hidrojen veren, ROS oluşumunu inhibe eden ve radikal süpürücü olduğunu öne sürmüştür [38]. Karahindiba çiçeği özütleri ile yapılan çalışmada, oksidatif stresin önlemesi, luteolin ve luteolin 7-*O*-glukozit gibi biyoaktif bileşenlerin varlığından kaynaklandığı gösterilmiştir [39]. *T. officinale* yaprak ve kök özütlerinin sitokrom c azalmasına neden olduğu ve antioksidan aktivite gösterdiği belirlenmiştir [40]. Yüksek kolesterollü diyetle beslenen tavşanlarda karahindiba kökü ve yaprağının olası hipolipidemik ve antioksidatif etkileri araştırılmıştır. Tedavi döneminden sonra plazma antioksidan enzimleri ve lipit profilleri belirlenmiştir. Karahindiba kök ve yaprak özütlerinin, kolesterolle beslenen tavşanlarda plazma antioksidan enzim aktivitelerini ve lipit profillerini olumlu yönde değiştirdiği ve bu nedenle potansiyel hipolipidemik ve antioksidan etkilere sahip olabileceği görülmüştür. Karahindiba kökü ve yaprağı, ateroskleroz ile bağlantılı oksidatif strese karşı koruma sağlayabilir ve aterojenik indeksi azaltabilir [38].

4.6. İmmunolojik Aktivite

T. officinale potasyum, kalsiyum mineralleri ile birlikte vitamin A, vitamin C, nikotinik asit gibi birçok önemli bileşik taşıyan oldukça besleyici bir türdür. Karaciğeri en olumlu etkileyen bitkilerden biri olan *T. officinale*'nin kronik karaciğer iltihaplarında ve karaciğer yağlanmasında iyileşme sağlayarak safra kesesinin çalışmalarını düzenlediği gösterilmiştir [41]. Yapılan bir çalışmada ratların karaciğerinde parasetamol ile toksikasyon oluşturularak antioksidan savunma sistemleri zayıflatılmış, *T. officinale* bitkisinin çiçek, sap ve yapraklarından elde edilen etanol özütünün karaciğer koruyucu etkisinin olup olmadığı araştırılmıştır. Çalışmada genel olarak ölçümü yapılan biyokimyasal parametreler ve histopatolojik bulgulara göre *T. officinale* özütünün, parasetamol ile oluşturulan hepatotoksisite ve karaciğer üzerine olumlu etkilerinin olduğu; *T. officinale* özütünün 250 mg/kg dozda ratlar üzerinde toksik etki yaparak lipit peroksidasyonu arttırdığı, antioksidan enzim düzeylerini önemli oranda azaltması nedeniyle toksik etkisinin olduğu tespit edilmiştir [41]. *T. officinale*'nin bileşimindeki terpenler, polisakkaritler, fenoller, flavonoitler gibi yapılar antioksidan savunma sistemini güçlendirerek bağışıklık sistemini düzenlemede rol oynarlar. Fakat bitkilerin aşırı kullanımı veya yüksek dozda alınması da toksisiteye neden olmuştur [41]. *T. officinale*'nin kök, gövde, yaprak ve çiçeklerinin çeşitli kombinasyonları ile kullanımında 200 mg/kg miktarının hepatotoksisite üzerine karaciğeri koruyabileceği bildirilmiştir [41].

4.7. Antiülser Aktivite

Ülser Latincede yara demektir. Ülser terimi daha çok sindirim sistemi boyunca meydana gelen yaraları tanımlamak için kullanılır. Karahindiba kök ve yaprakları, Fransa'da geleneksel halk

hekimliğinde koleretik veya kolagog olarak kullanılır. Kökü sindirim kolaylaştırıcıdır. Komisyon E Monograflarında bitki koleretik, diüretik ve iştah artırıcı olarak kayıtlıdır [7]. *T. officinale* sulu özütlerinin mutlak etanol kaynaklı ülser sıçanları üzerindeki iyileştirici etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada standart ilaç olarak omeprazol (20 mg/kg) kullanılmıştır [42]. Özütlerle tedavi edilen sıçanların değerlendirilmesinde, ülser skor indeksinde anlamlı ($p \leq 0.05$) azalma ve yüzde inhibisyonda bir artış görülmüştür. Bu çalışma *T. officinale*'nin doza bağlı olarak etanol kaynaklı mide hasarına karşı antiülser ve antioksidan savunma özellikleri olduğunu göstermektedir [42].

4.8. Antihiperglisemik Aktivite

Hussain ve arkadaşları (2004) tarafından yapılan bir çalışmada *T. officinale* etanolik özütü, anti-diyabetik ilaç olan glibenklamid (kontrol grubu olarak) ile *in-vivo* ortamda karşılaştırılmış ve anlamlı bir insülin sekresyonu bulunmuştur. Karahindiba etanolik özütünün, obez olmayan diyabetik farelerde antihiperglisemik etkilere sahip olduğu görülmüştür. Ayrıca a-glukosidaz ve a-amilazı inhibe ederek nişasta gibi kompleks karbonhidratların sindirilmesini önleyerek anti-hiperglisemik etkiye katkıda bulunmuştur. Diyabetik sıçanlarla yapılan çalışmalar, karahindiba özütünün glikoz plazma konsantrasyonunda bir azalmaya neden olduğu ve pankreas hücrelerinin insülin sekresyon aktivitesini arttırdığını göstermiştir [43]. Karahindibanın anti-diyabetik özellikleri biyoaktif kimyasal bileşenleri olan kikorik asit, taraksasterol, klorojenik asit ve seskiterpen laktonlardan ileri gelmektedir [43].

4.9. Antiviral Aktivite

T. officinale sulu ve metanolik özütlerinin, dang virüsü serotipi 2 (DENV2) replikasyonu üzerindeki aktivitesi değerlendirilmiştir. *T. officinale* metanolik ekstesinin DENV2 replikasyonu üzerinde daha yüksek inhibitör etkiler gösterdiği belirlenmiştir [43].

4.10. Prebiyotik Aktivite

T. officinale kök ve yaprağı geleneksel tıpta sindirimi teşvik etmek ve karaciğeri desteklemek için kullanılmıştır. En güçlü formülasyonlar, karahindiba kök veya yaprak özleri veya ikisinin bir kombinasyonudur. Prebiyotik olarak, karahindiba kökü bağırsakta yararlı floranın büyümesini teşvik eder ve bağırsak mikrobiyomunu dengelemeye yardımcı olur [20].

4.11. Antihiperlipidemik Aktivite

Karahindibanın antioksidan etkisinin flavonoitler ve kumarik asit gibi fenolik bileşiklerden

kaynaklandığı bilinmektedir. Bir araştırmada tavşanlar yüksek kolesterol diyeti ile beslenerek, aort içinde lipit birikimi ile ateroskleroz geliştirilmiştir. Bu lezyonların oluşumu sonrası karahindiba yaprak ve kökü takviye edilmiştir. Bu çalışma sonucunda karahindibanın, oksidatif stres ile serum trigliserid ve LDL düzeyini azaltarak serum HDL değerini yükselttiği ve ateroskleroz derecesini azalttığı belirlenmiştir [38].

YAN ETKİLERİ

Bitki genel değerlendirmede zayıf alerjen olarak kabul edilmiştir [7]. Bilinçsiz kullanım sonrasında gastrik rahatsızlıkların görüldüğü belirtilmiştir. Doktor ve eczacı denetimi olmadan kullanılmamalıdır [44].

SONUÇ

T. officinale halk arasında laksatif, tonik ve ateş düşürücü olarak, diyabet, göz enfeksiyonu, boğaz ağrısı, akciğer, karaciğer ve safra kesesi rahatsızlıkları, sarılık, gut, uykusuzluk, böbrek taşı şikâyetleri, romatizma ve idrar yolu enfeksiyonları gibi hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır. Dâhilen infüzyonu (%5) veya taze bitkiden hazırlanan dekoksiyonu kullanılmaktadır. *T. officinale* türünün kök ve toprak üstü kısımları kullanılarak yapılan çeşitli aktivite çalışmalarında, antioksidan, antienflamatuvar, antimikrobiyal, diüretik, antikanser, antiülser, antikoagülan, antitrombotik, prebiyotik, karaciğerden safra salgısında arttırıcı ve hipoglisemik aktiviteleri araştırılmıştır.

KAYNAKÇA

[1] Moyer JR, Boswall AL, Kawchuk LM, Entz T, Tovell B, Lee B. Characterization of dandelion (*Taraxacum officinale* Weber in FH Wigg.) biotype morphology, chemical composition and response to glyphosate. Canadian journal of plant science, 2009; 89(2), 369-378.

[2] Abdullayeva N. Bursa ve çevresinde yayılışı olan *Taraxacum* FH Wigg. (Asteraceae) türleri üzerinde taksonomik araştırmalar (Master's thesis, Bursa Uludağ Üniversitesi. 2018.

[3] Davis PH, Mill RR, Tan K. Flora of Turkey and the East Aegean Islands, Edinburgh, UK: Edinburgh University Press.. 1988; 5.

[4] Yıldırım H. *Taraxacum rupicolum* (Asteraceae): Doğu Anadolu'dan yeni bir Karahindiba (Taraxacum F.H.Wigg.) türü. Bağbahçe Bilim Dergisi 2014; 1(3): 72-81, E-ISSN:2148-4015.

[5] Güner A, Aslan S, Ekim T, Vural M, Babaç MT (editörler). Türkiye Bitkileri Listesi (Damarlı Bitkiler). Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi ve Flora Araştırmaları Derneği Yayını, İstanbul. 2012.

[6] Baytop T. Türkçe Bitki Adları Sözlüğü. 4.Baskı. Ankara:Türk Dil Kurumu, 2015; 155.

[7] Haznedaroğlu MZ. *Taraxacum officinale* In: Demirezer, Ö. (edit.). FFD Monografları, Tedavide Kullanılan Bitkiler. 2011; 659-666.

[8] Kırpık ve ark. Evelik Bitkisi (*Rumex patientia* L.) ve Karahindiba (*Taraxacum officinale* L.) kullanılarak doğal yolla baklagil yaprak biti (Aphis fabae Scop.)'nin hedef konukçusunun değiştirilmesi. Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi 2019; 12(1): 1-8.

[9] Sarı AO, Bilgin O, Bilgiç A, Nedret T, Güvensen A, Şenol SG. Ege ve Güney Marmara bölgelerinde halk ilacı olarak kullanılan bitkiler. Anadolu Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Dergisi, 2010; 20(2), 1-21.

[10] Lim TK. Edible Medicinal and non-medicinalplants: Flowers. Springer Chapter 2014; 7.

[11] Gurib-Fakim A. Medicinalplants: traditions of yesterday and drugs of tomorrow. Molecular Aspects of Medicine 2006; 27: 1–93.

[12] Schütz K. et al. *Taraxacum* A review on its phytochemical and pharmacological profile. Journal of Ethnopharmacology 2006; 107: 313–323.

[13] Kaplan M, Yılmaz MM, Köprü S, Gözelle H, Muhderem G, Uslu R. Sıvı/katı oranı ve etanol konsantrasyonuna göre karahindiba (*Taraxacum officinale*) tentürünün verim ve biyoaktivitesindeki değişimin incelenmesi. Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi. 2018; 5(2), 163-174.

[14] Dandelion, https://blog.gardeningknowhow.com/tbt/dandelion-plant-history-facts/. adresinden erişildi.

[15] Martinez M, Poirrier P, Chamy R, Prüfer D, Schulze-Gronover C, Jorquera L et al. *Taraxacum officinale* and related species—An ethnopharmacological review and its potential as a commercial medicinal plant. Journal of Ethnopharmacology, 2015; 169, 244–262.

[16] Schuetz K, Carle R, Schieber A. Taraxacum—A review on its phytochemical and pharmacological profile. Journal of Ethnopharmacology, 2006; 107, 313–323.

[17] Sharifi-Rad M, Roberts TH, Matthews KR, Bezerra CF, Morais-Braga MFB, Coutinho HD et al. Ethnobotany of the genus *Taraxacum*—Phytochemicals and antimicrobial activity. Phytotherapy Research, 2018; 32(11), 2131-2145.

[18] Ertuğ F. An ethnobotanical study in central Anatolia (Turkey). Economic Botany, 2000; 54(2), 155.

[19] Baytop T. Türkiye'de bitkilerle tedavi: Geçmişte ve Bugün. İstanbul Üniversitesi Yayınları, Istanbul. 1984.

[20] Wirngo FE, Lambert MN, Jeppesen PB. The physiological effects of dandelion (*Taraxacum officinale*) in type 2. The Review of Diabetic Studies, 2016; 13, 113–131.

[21] Hänsel R, Kartarahardja M, Huang JT, Bohlmann F. Sesquiterpenlacton-β-D-glucopyranoside sowie ein neues Eudesmanolid aus *Taraxacum officinale*. Phytochemistry, 1980; 19(5), 857-861.

[22] Kisiel W, Barszcz B. Further sesquiterpenoids and phenolics from *Taraxacum officinale.* Fitoterapia, 2000; 71(3), 269-273.

[23] Rauwald HW, Huang JT. Taraxacoside, a type of acylated γ-butyrolactone glycoside from Taraxacum officinale. Phytochemistry, 1985; 24(7), 1557-1559.

[24] Díaz K, Espinoza L, Madrid A, Pizarro L, Chamy R. Isolation and identification of compounds from bioactive extracts of *Taraxacum officinale* Weber ex FH Wigg.(Dandelion) as a potential source of antibacterial agents. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2018.

[25] Sigstedt SC, Hooten CJ, Callewaert MC, Jenkins AR, Romero AE, Pullin MJ et al. Evaluation of aqueous extracts of *Taraxacum officinale* on growth and invasion of breast and prostate cancer cells. International journal of oncology, 2008; 32(5), 1085-1090.

[26] Rawa'a AM, Hassawi DS, Ibaheem NK. cytotoxic activity of *taraxacum officinale* ethanolic plant extract against human breast cancer (MCF-7) cells and human hepatic (WRL-68) cells. Iraqi Journal of Cancer and Medical Genetics, 2018; 11(1), 16-21.

[27] Koo HN, Hong SH, Song BK, Kim CH, Yoo YH, Kim HM. *Taraxacum officinale* induces cytotoxicity through TNF-α and IL-1α secretion in Hep G2 cells. Life Sciences, 2004; 74(9), 1149-1157.

[28] Ovadje P, Chochkeh M, Akbari-Asl P, Hamm C, Pandey S. Selective induction of apoptosis and autophagy through treatment with dandelion root extract in human pancreatic cancer cells. Pancreas, 2012; 41(7), 1039-1047.

[29] Seo SW, Koo HN, An HJ, Kwon KB, Lim BC, Seo EA et al. *Taraxacum officinale* protects against cholecystokinin-induced acute pancreatitis in rats. World Journal of Gastroenterology: WJG, 2005; 11(4), 597.

[30] Yan L, Zhang ZF, Park JC, Kim IH. Evaluation of Houttuynia cordata and Taraxacum officinale on growth performance, nutrient digestibility, blood characteristics, and fecal

microbial shedding in diet for weaning pigs. Asian-Australasian journal of animal sciences, 2012; 25(10), 1439.

[31] Kim HM, Shin HY, Lim KH, Ryu ST, Shin TY, Chae HJ et al. *Taraxacum officinale* inhibits tumor necrosis factor-α production from rat astrocytes. Immunopharmacology and immunotoxicology, 2000; 22(3), 519-530.

[32] Park CM, Park JY, Noh KH, Shin JH, Song YS. *Taraxacum officinale* Weber extracts inhibit LPS-induced oxidative stress and nitric oxide production via the NF-κB modulation in RAW 264.7 cells. Journal of ethnopharmacology, 2011; 33(2), 834-842.

[33] Modaresi M, Resalatpour N. The effect of *Taraxacum officinale* hydroalcoholic extract on blood cells in mice. Advances in hematology, 2012.

[34] İçigen HÖ. Bitki doku kültürü yöntemi ile elde edilen bazı bitki türlerinin antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Kütahya Dumlupınar Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kütahya, 2019.

[35] Jassim AKM, Farhan SA, Noori OM. Identification of dandelion Taraxacum officinale leaves components and study its extracts effect on different microorganisms. Al-Nahrain Journal of Science, 2012; 15(3), 7-14.

[36] Döşler S, Özdemir R, Yılmaz F. Bazı bitki ekstrelerinin antimikrobiyal etkilerinin araştırılması. Türk Farmakope Dergisi, 2019; 4(3): 17-28.

[37] Clare BA, Conroy RS, Spelman K. The diuretic effect in human subjects of an extract of Taraxacum officinale folium over a single day. The Journal of Alternative and Complementary Medicine, 2009; 15(8), 929-934.

[38] Choi UK, Lee OH, Yim JH, Cho CW, Rhee YK, Lim SI et al. Hypolipidemic and antioxidant effects of dandelion (taraxacum officinale) root and leaf on cholesterol-fed rabbits. International journal of molecular sciences, 2010; 11(1), 67-78.

[39] Hu C, Kitts DD. Antioxidant, prooxidant, and cytotoxic activities of solvent-fractionated dandelion (*Taraxacum officinale*) flower extracts in vitro. Journal of agricultural and food chemistry, 2003; 51(1), 301-310.

[40] Hagymási K, Blázovics A, Lugasi A, Kristó ST, Feher J, Kery A. In vitro antioxidant evaluation of dandelion (*Taraxacum officinale* Web.) water extracts. Acta Alimentaria (Budapest), 2000; 29(1), 1-7.

[41] Şenocak EA, Yıldırım BA. Ratlarda parasetamol ile oluşturulan hepatotoksisite üzerine

Taraxacum Officinale etanol özütünün etkisi. Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 2017; 6(1), 11-18.

[42] Berezi EP, Uwakwe AA, Monago-Ighorodje CC, Nwauche KT. Anti-ulcer and antioxidant defenses of taraxacum officinale (dandelion) leaf extracts against ethanol-induced gastric ulcer in rats. World Journal of Pharmaceutical Research 2017; 7(1), 35-50.

[43] Hussain Z, Waheed A, Qureshi RA, Burdi DK, Verspohl EJ, Khan N et al. The effect of medicinal plants of Islamabad and Murree region of Pakistan on insulin secretion from INS-1 cells. Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives, 2004; 18(1), 73-77.

[44] Cuzzolin L, Zaffani S, Benoni G. Safety implications regarding use of phytomedicines. European journal of clinical pharmacology, 2006; 62(1), 37-42.

T.C. SAĞLIK BAKANLIĞI
TÜRKİYE İLAÇ VE TIBBİ CİHAZ KURUMU

DERLEME MAKALESİ

Türk Farmakope Dergisi 2020, 5(3): 32-42
© Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu 2020

MAJİSTRAL İLAÇLARA VE BUNLARIN TEDAVİDEKİ YERİNE GÜNCEL BİR BAKIŞ

Meliha GÜNEŞ[1], Sinem Yaprak KARAVANA[1]*, Mehmet Emre ÖZDEMİRHAN[2], Evren ALĞIN YAPAR[2]

1. Ege Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Teknoloji ABD, 35100, Bornova-İzmir.

elmek*: sinemyaprak@hotmail.com

2. T.C. Sağlık Bakanlığı, Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu, Analiz ve Kontrol Laboratuvarları Dairesi Başkanlığı, 06430, Sıhhiye-Ankara.

Geliş tarihi: 18.08.2020 / Kabul tarihi: 28.08.2020

ÖZET

Eczacılar, sağlık profesyonelleri olarak hem toplum sağlığının korunması hem de sağlık hizmetlerinin karşılanmasında önemli görev alırlar. Bu görevleri kapsamında, ruhsatlı ilaçların (tıbbi müstahzarların) ya da doktor reçetesine göre hazırladıkları majistral ilaçların hastaya sunulmasını sağlarlar. Farmasötik teknolojideki endüstriyel gelişmeler ve ilerlemeler, daha fazla sayıda ilacın daha kısa sürede ve daha ucuza üretimine olanak sağlasa da yetim hastalıklar, kişilerdeki fizyolojik farklılıklar ve kişiye özel ilaç tedavisinin hastanın tedaviye uyumunu ve tedavinin başarısını arttırması gibi sebeplerle majistral formülasyonlar hala daha büyük önem taşımaktadır. Majistral ilaçlar eczacılık hizmetinin vazgeçilmez bir parçası olup sağlık hizmetinin tamamlanması açısından önemli bir ihtiyaçtır. Bu derlemede majistral ilaçların günümüzdeki durumuna güncel bir bakış sunulmaktadır.

Anahtar kelimeler: Majistral ilaç, Ofisinal ilaç, Farmakope, Kodeks, Ticari tıbbi müstahzar.

A CURRENT OVERVIEW ON MAGISTRAL MEDICINES AND THEIR STATUS IN MEDICATION

ABSTRACT

Pharmacists, as health professionals, take part in both protecting public health and providing

health services. Within the scope of these duties, they ensure that licensed medicines (medical preparations) or magistral medicines prepared according to the doctor's prescription are presented to the patient. Although industrial developments and advances in pharmaceutical technology enable the production of more drugs in a shorter time and cheaper, magistral formulations are still of great importance due to reasons such as orphan diseases, physiological differences in individuals and personalized drug treatment that makes the patient feel psychologically well. Magistral medicines are an indispensable part of the pharmacy service and an important need in terms of completing the health service. In this review an overview of the current situation of magistral medicines is presented.

Keywords: Magistral medicines, Officinal medicines, Pharmacopoeia, Codex, Commercial licensed medicine.

GİRİŞ

Majistral ilaç, eczanelerde eczacı tarafından doktor reçetesine göre hazırlanan ilaçlardır ve 4000 yıldan uzun süredir eczacılık uygulamalarının ayrılmaz bir parçası olmuştur [1]. Amerikan Farmakopesi Ulusal Formüler (The United States Pharmacopeia USP34/NF29) Bölüm 795'e göre ise doktor-hasta-eczacı zincirinde; bir ilacın hazırlanması, karıştırılması, bir araya getirilmesi, değiştirilmesi, ambalajlanması ve etiketlenmesini kapsayan bir ilaç şeklidir [2].

Majistral ilaç hizmetlerinden yararlanabilecek birçok hasta grubu bulunmaktadır. Günümüzde ruhsatlı ilaçların büyük çoğunluğu yetişkinlerin kullanımına uygun olup özellikle bebek ve çocuklar için geliştirilen ilaç sayısı oldukça azdır. Pediatrik kullanım için uygun dozaj şekli olmayan ilaçların alternatifi majistral ilaçların hazırlanmasıdır [3]. Bunun için tabletlerin bölünmesi veya kapsül içeriğinin boşaltılması ile daha düşük dozajlarının hazırlanması, tabletlerin toz edilerek süspande hale getirilmesi, ilacın tadının ya da kokusunun düzeltilmesi, pastil, lolipop gibi farklı dozaj şekilleri olarak hazırlanması gibi uygulamalar ile çocukların ilaç alımı kolaylaştırılabilmektedir. Benzer uygulamalarla geriatrik popülasyon için de majistral formülasyonlar hazırlanabilmektedir [4]. Amerika Birleşik Devletleri`nde yapılan yeni bir araştırmanın raporuna göre, global majistral ilaç pazarının gittikçe büyümekte olduğu, bunun sebepleri arasında geriatrik popülasyonun artışı ve artan kişiselleştirilmiş ilaç ihtiyacının yer aldığı belirtilmektedir [5]. Ayrıca majistral ilaçlar sayesinde nadir bir hastalık tedavisi için hiçbir müstahzar bulunmadığında hastalara, uygun maliyetli tedavi alternatfileri sunulabileceği görüşü de mevcuttur. Ek olarak, nadir hastalıkları olan hastalar için kişiselleştirilmiş tedaviye izin vermesi de önemli bir avantajdır [6].

Ayrıca veterinerlik alanında terapötik ihtiyaç yelpazesinin oldukça geniş olmasına karşın tüm hayvan grupları ve endikasyonlar için onaylı yeterli sayıda müstahzar mevcut değildir. Bu nedenle, hayvanların tıbbi tedavilerini sağlamak için yaygın olarak majistral ilaçlar kullanılmaktadır. İlaveten majistral ilaç tedavilerinin kullanımının ekonomik olması, tedavi seçeneklerini arttırması ve

hastanın isteklerine göre yapılan değişiklikler veteriner hekimlerin de majistral ilaçlara yönelmesini sağlamıştır [7].

Majistral ilaç, alerjen boya ve koruyucu gibi yardımcı maddeleri uzak tutmak, tadı maskelemek, dozaj şekillerini değiştirmek, yan etkileri azaltmak, ilgili doz veya dozaj şekli piyasada bulunmuyorsa uygun şeklini hazırlamak, uzatılmış etkili salım veya kombinasyon tedavisi ile hasta uyuncunu arttırmak, daha uygun fiyatlı bir tedavi sağlamak, özel bir problem için kişiye özgü bir dozaj şekli temin etmek amacıyla da hazırlanabilmektedir [8]. Bir majistral ilaç olarak ofisinal fomülasyonlar, kodeks ve farmakopelerde yazılı olan formüllere göre eczanelerde hemen hazırlanıp hastaya verilen veya stok halinde bulundurulup eczaneye gelen reçeteye göre formülasyonu yapıldıktan sonra hastaya verilen ilaçlardır [9].

Majistral ilaçların yüksek kalitede hazırlanabilmesini sağlamak için düzenlenen standartlar ulusal ve uluslararası farmakopelere de girmiştir.

Bu derlemede majistral ilaç kavramına ve bu ilaçların günümüzdeki durumuna güncel bir bakış açısı sunulmaktadır.

Majistral İlaçların Farmakopeler ve Diğer Kaynaklardaki Yeri

Türk Farmakopesi, majistral ürünlerde; ölçme, reçeteler, majistral uygulamalarda çalışma esasları, majistral uygulamalarda laboratuvar kazaları ve ilk yardım, majistral uygulamalarında su, tampon çözeltiler, yüzdeli-yoğunluklu çözeltiler için seyreltme, majistral uygulamalarda malzemeler, majistral ürünlerin hazırlanmasında kullanılan temel malzemeler, majistral uygulamalar temel işlemler, etanol seyreltilmesi, karıştırma, yumuşak jelâtin kapsüller, formülasyonlarda kullanılan antibakteriyel ve antioksidan maddeler, izotonik çözelti hazırlanması, majistral uygulamalarında ambalajlama, ambalaj malzemesi ve ilaç kapları, majistral uygulamalarda stabilite, sağlık, güvenlik, kimyasal madde uyarıları ve imlekleri, Latince kısaltmalar gibi ana başlıklardan oluşan genel monograflar içermektedir. Bunun yanı sıra tentürler, şuruplar, süspansiyonlar, emülsiyonlar, kulak damlaları, çözeltiler, karışımlar, patlar, tozlar, losyonlar, jeller, merhemler, kremler, inhalasyonlar, infüzyonlar, çaylar, enjeksiyonlar, fitiller, özütler ve kapsüller gibi farmasötik şekillerde özel monograflar da içermektedir [10].

Amerikan Farmakopesi USP Bölüm 795'te ‘‘Bir ilacın, ilaç dağıtım cihazının veya cihazın lisanslı bir uygulayıcının reçetesi uyarınca hazırlanması, karıştırılması, birleştirilmesi, değiştirilmesi, paketlenmesi ve etiketlenmesi’’ olarak açıklanmıştır. USP, insan ve veterinerlik alanlarında majistral formülasyonların bulunduğu monografları içermektedir. USP'de majistral ürünler ile ilgili bilgiler ‘‘*General Chapter Pharmaceutical Compounding - Nonsterile Preparations*’’ kısmında verilmektedir. Majistral formül monografları ise Ulusal Formüler başlığı altında paylaşılmaktadır [11]. Amerikan Farmakopesi`nde beşeri ve veteriner alanlarındaki majistral formülasyonların

monografları ile ayrıca işlevsel sınıfa göre listelenmiş yardımcı maddeler için bir genel monograf içermektedir. Bu monograflar, ticari müstahzar olarak uygun bir ürünün bulunmadığı durumlarda eczacılara majistral hazırlamada yardımcı olmak için gerekli kalite standartlarını sağlamaktadır [11].

İngiliz Farmakopesi (The British Pharmacopoeai-BP)`nin üçüncü cildi, farmasötik preparatlar, sözlük, kapsüller, deri uygulamaları için sıvılar, kulak preparatları, ilaçlı köpükler, granüller, ilaçlı sakızlar, infüzyonlar, inhalasyon preparatları, yıkama preparatları, oral çözeltiler, nazal preparatlar, ağız içi mukozası preparatları, parenteral preparatlar, oral tozlar, topikal tozlar, basınçlı farmasötik preparatlar, rektal preparatlar, vajinal preparatlar, topikal yarı-katı preparatlar, çubuklar, tabletler, ilaçlı tamponlar, transdermal yamalar, aromatik sular gibi genel monograflar içermektedir [12]. BP'de bulunan majistral formül monografları da ürünler için gerekli minimum kalite standartlarını sağlamaktadır. Bu monograflarda majistral formülün adı, tanımı, amacı, hazırlanışı, kalite testleri ve etiketleme bilgileri yer almaktadır. Bahse konu farmakopelerde yer alan majistraller; oral sıvılar (çözelti, süspansiyon, emülsiyon, oksimel, şurup), oral katılar (toz), topikal ürünler (çözelti, krem, merhem, pasta, kollodyon, losyon, liniment, toz), rektal ürünler (enema, supozituvar) ve ayrıca spritler, kulak damlası ve ağız gargaraları şeklindedir. Ayrıca majistral formüllerin içeriğinde kullanılmak üzere bazı tentürlere de yer verilmiştir [1].

Majistral terimi çeşitli şekillerde tanımlanmakla birlikte Amerikan Profesyonel Majistral Merkezi (Professional Compounding Centers of America-PCCA) majistral formülasyon hazırlamayı hastalar için kişiselleştirilmiş ilaçlar hazırlama sanatı ve bilimi olarak tanımlamaktadır. Ayrıca majistral formülasyonların, eczacının hastanın özel ihtiyaçlarını karşılamak için bir ilacı kişiselleştirmesine, hasta ve reçete yazan doktor ile birlikte çalışmasına imkan sağladığını da belirtmektedir [13].

BP'de ise majistral ilaç terimi yetkili bir sağlık uzmanının talebi üzerine güncel tıbbi ilaçlarla karşılanmamış, hasta tıbbi gereksinimlerini karşılamak üzere hazırlanan ilaçlar olarak açıklanmaktadır [14].

Türkiye'de ise Eczacılar ve Eczaneler Hakkında Kanun dayanağında 12 Nisan 2014 Cumartesi/ Resmî Gazete/Sayı: 28970 ile yayınlanan Eczacılar ve Eczaneler Hakkında Yönetmelik`te majistral ilaç tanımını, majistral ilaçlar için laboratuvar kısmının özelliklerini, majistral ilaçlar, etiket ve ambalajını ve majistral ilaçlarla ilgili reçete özelliklerini açıklamaktadır. Bu yönetmeliğin 50. Maddesine göre Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu tarafından "İyi Eczacılık Uygulamaları Kılavuzu" hazırlanmış ve bu kılavuz majistral ürünler ile ilgili majistral ilacın tanımı, majistral ilaç hazırlanmasında kullanılan maddeler, majistral ilaç hazırlanması ile ilaçların temini, saklanması, hastaya sunumu ve imhası gibi başlıkları içermektedir [14-17].

Majistral İlaçların Mevzuattaki Yeri

Majistral ilaçlara ilişkin mevzuatta hükümler; Eczacılar ve Eczaneler Hakkında Kanun [15] ile Eczacılar ve Eczaneler Hakkında Yönetmelik`te [16] aşağıda verilen kısımlar ile düzenlenmiştir.

Eczacılar ve Eczaneler Hakkında Kanun

Kanun Numarası: 6197 Kabul Tarihi: 18/12/1953 Yayımlandığı R. Gazete: Tarih: 24/12/1953 Sayı: 8591 Yayımlandığı Düstur: Tertip: 3 Cilt: 35 Sayfa: 83

ÜÇÜNCÜ BÖLÜM Ecza ve kimyevi maddeler

Madde 21 – Müesseselerde bulundurulan Türk kodeksine dahil ecza ve kimyevi maddeler Türk kodeksinde yazılı vasıf ve şartları haiz olacaktır.

Madde 22 – Ambalajları açılmış tıbbi ecza ve kimyevi maddelerin saf olmamalarından ve iyi muhafaza edilmemelerinden eczane, ecza deposu ve laboratuvar sahipleri ve mesul müdürleri mesuldür.

Madde 23 – Zehirli ve müessir eczanın muhafazası ve müstehlike satışı bu hususta ki kanun ve mevzuata göre yapılır.

Madde 24 – (Değişik: 2/1/2014-6514/36 md.) Eczanelerden zehirli ve müessir maddeler ile ilaçların toptan satışı yapılamaz ve eczaneler ihalelere giremez. Eczaneler arası ilaç takası, toptan satış sayılmaz; ilaçların satışı, alındığı ecza deposuna veya mücbir sebep hâlinde diğer depolara iadesi, eczaneler arasındaki takası, miadı geçmiş ya da bozulmuş olanlarının imhası işlemlerinde ilaç takip sistemine bildirim yapılması zorunludur. İlaçların internet veya başkaca herhangi bir elektronik ortamda satışı yapılamaz. Eczane eczacıları ve eczaneler adına internet sitesi açılamaz. Eczacılar, kendilerine reçete gönderilmesine yönelik olarak her ne şekilde olursa olsun, kurumlar, hekimler, diğer sağlık kurum ve kuruluşları veya üçüncü şahıslar ile açık veya gizli iş birliği yapamaz, simsar, kurye elemanı ve benzeri yönlendirici personel bulunduramaz, reçete toplama veya yönlendirme yapamaz, bu yollarla gelen reçeteleri kabul edemez. Bu fiillerin tespiti hâlinde eczacı ile aracı kişi veya kuruluşa beş bin Türk Lirasından elli bin Türk Lirasına kadar idari para cezası verilir. Fiillerin tekrarı hâlinde verilecek idari para cezası, daha önce verilen cezanın iki katı olarak uygulanır.

Madde 25 – Eczaneye imal edilmek üzere bırakılan reçetelerin tadil veya tağyir edilmeden yapılması meşrut olup ilaçların ve reçetelerin (fiyatları üzerinde yazılmak suretiyle) alıcıya verilmesi Sağlık ve Sosyal Yardım Vekaletince tespit ve ilan olunacak esaslara göre yapılır. Eczanelerde hazırlanan reçetelerin ilaçlarında görülecek hata vesaireden doğrudan doğruya eczanenin mesul müdürü sorumludur.

Eczacılar ve Eczaneler Hakkında Yönetmelik

Türkiye İlaç ve Tıbbî Cihaz Kurumu, *12 Nisan 2014 Cumartesi, Resmî Gazete Sayı: 28970.*

Eczacının görev ve yetkileri

MADDE 6 – (1) Eczacının görev ve yetkileri aşağıda belirtilmiştir.

a) Hastalıkların teşhis ve tedavisi ile hastalıklardan korunmada kullanılan tabii ve sentetik kaynaklı ilaç ham maddelerinin elde edilmesini ve bu ham maddelerden değişik farmasötik tipte ilaçların hazırlanmasını ve hastaya sunulmasını sağlar.

Majistral İlaçların Hazırlanması

Majistral formülasyon hazırlamada öncelikle aşağıda belirtilen hususlar majistral preparat için sorgulanmalı ve daha sonra aşağıda belirtilen basamaklara uygun olarak işlem yapılmalıdır [18].

- Etkin maddenin fiziksel, kimyasal özellikleri ve farmasötik kullanımı nelerdir?
- Her bir aktif bileşenin miktarı ve kalitesi belirlenebilir mi?
- Reçetenin amacı göz önüne alındığında, uygulama yolu lokal veya sistemik olarak yeterli emilimi sağlayacak mı?
- Yardımcı maddeler alerjik tepkimeye, tahrişe, toksisiteye veya hasta tarafından istenmeyen bir tepkiye neden olabilir mi?
- Oral olarak uygulanacak preparatlar için, aktif bileşenler normal mide pH aralığında stabil mi ya da yoğun hepatik ilk geçiş metabolizmasına maruz kalıyorlar mı?

Hazırlık

1. Reçetenin güvenliği, kullanım amacı ve hasta için dozu açısından uygunluğuna karar verilmesi.
2. Gerekli bileşenlerin miktarlarını belirlemek için hesaplamaların yapılması.
3. Uygun donanımı seçmek ve temiz olduğundan emin olunması.
4. Uygun kıyafetlerin giyilmesi ve ellerin yıkanması.
5. Gerekirse hazırlama alanı ve donanımın temizlenmesi.
6. Reçeteyi hazırlamak ve paketlemek için gerekli tüm malzeme ve bileşenlerin bir araya getirilmesi.

Formülasyonun Hazırlanması

7. Formülasyonun, eczacılık tekniğine ve bilimine uygun teknikler kullanarak reçeteye göre hazırlanması.

Son kontrol

8. Ağırlık değişimi, karıştırma yeterliliği, berraklık, koku, renk, kıvam ve pH değerinin kontrol edilmesi.

9. Bilgilerin not edilmesi.

10. Reçetenin etiketlenmesi.

Sonlandırma

11. Gerekli kalite özelliklerinin sağlanması için belirtilen işlemlerin tamamının gerçekleştirildiğinin onaylanarak, üzerine tarih yazılması.

Temizlik

12. Tüm donanımın temizlenmesi ve kaldırılması.

13. Hazırlama alanının temizlenmesi.

Majistral ve Ofisinal İlaçların Hazırlanışında Dikkat Edilecek Hususlar

Tartım ve Ölçüm

Tartım ve ölçüm, bir majistral formülasyon hazırlanırken uygulanan en temel işlemlerdir. Tartım ve ölçüm işlemleri tekniğin doğruluğu, nihai ürünün doğruluğu ve etkinliği üzerinde büyük bir etkiye sahiptir [19]. Tartım ve ölçüm yaparken üzerinde önemle durulması gereken iki kavram doğruluk ve duyarlılıktır. Doğruluk, fiziksel bir niceliğin bir ölçümünün gerçek değere ne kadar yakın olduğunu gösterir. Duyarlılık, aynı büyüklüğün ölçülmesinden elde edilen iki değerin birbirine ne kadar yakın olduğunu gösterir.

Tartım ve ölçümler sonucu elde edilen sayısal değerler, ancak hatalar ile birlikte verildikçe anlamlı olur. Hiçbir fiziksel ölçüm hatasız değildir. Burada hata olarak belirtilen, “yanlış” ya da “kusur” değil, “belirsizlik” kavramıdır. Kullanılan ölçüm aletinin duyarlılığı ve ölçümde izlenilen deneysel yönteme bağlı olarak yapılacak ölçümün sonucu belirli bir hata sınırı içerisinde olacaktır [20].

Farmasötik maddeler tartılırken, Systeme International d’Unites (SI) birim sistemi çerçevesinde gram (g) birimi kullanılır. Varyasyonları, gramın 1000 kat artması veya bölünmesiyle oluşturulur.

Sıvılar ise evrensel olarak litre (L) cinsinden ölçülür. SI birim sisteminin bir parçası olmasa da, genellikle yaygın olarak kullanılır. Bir litre, bir desimetre küp (0.001 m^3) olarak tanımlanır [19].

Etkin maddelerin derişimi

Bir formülasyondaki aktif bileşenlerin kuvvetini ifade edebilmenin birkaç farklı yolu vardır.

- Milimol

Bir farmasötik preparat içindeki aktif bileşenin gücü, birim hacim veya ürün kütlesi başına düşen milimol sayısı olarak ifade edilebilir. Mol, madde miktarının birimidir ve bir mol, 1000 milimol demektir. Formülasyondaki bir bileşenin milimol sayısını hesaplamak için, önce aktif bileşenin moleküler ağırlığının bilinmesi gerekmektedir. Aktif bileşenin mol sayısı, bileşen kütlesinin moleküler kütleye bölünmesiyle elde edilir.

- Miliekivalan ve ekivalan

Çözeltiler formüle edilirken, bazen eczacı sadece bir iyon çiftinin yarısıyla ilgilenir (örneğin, bir HCl çözeltisinde bulunan H^+ iyonlarının sayısı). Bunu ifade etmenin en iyi yollarından biri, ekivalan sayısını belirtmektir (Eq).

Farmasötik çözeltilerde sıklıkla kullanılan küçük miktarlarda elektrolitler nedeniyle, daha yaygın olan miliekivalan terimi kullanılır 1 Eq 1000 mEq'a eşit olduğundan Eq/mol sayısının mEq/mmol sayısına eşit olduğu sonucu çıkar. Bu, elektrolit dengesizliğini düzeltmek için bir hastaya verilmesi gereken elektrolit miktarını ifade etmek için yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir.

- Yüzde derişim

Farmasötik bir üründe derişimi "yüzde" ile ifade etmenin birkaç farklı yöntemi bulunmaktadır. Bu yöntemlerin hepsi modern eczanelerde ortak kullanımda olduğundan, farklı yüzdelerin arasında ayrım yapabilmek önemlidir. Aşağıdaki terimler yaygın olarak kullanılmaktadır:

- %*a/a* veya ağırlıkça yüzde ağırlık: 100 g üründeki çözünen maddenin gram cinsinden miktarını;
- %*a/h* veya hacimde ağırlık yüzdesi: 100 mL üründe gram cinsinden çözünen miktarı;
- %*h/h* veya hacimce yüzde hacim: 100 mL üründeki mililitre cinsinden çözünen madde miktarını;
- %*h/a* veya ağırlıkça yüzde hacim: 100 g üründeki mililitre cinsinden çözünen madde miktarını ifade eder [19].

MAJİSTRAL İLAÇLARIN TEDAVİDEKİ YERİ

Günümüzde, yetim hastalıklar, kişilerdeki fizyolojik farklılıklar ve kişiye özel ilaç tedavisinin hastanın psikolojik olarak iyi hissetmesinin ve tadiveye uycunun arttırılmasının sağlaması majistral formülasyonların önemini tekrar gündeme getirmektedir. Ruhsatlı ilaçların yetersiz kaldığı durumlarda hastanın ihtiyacı olan ilaç dozunun sağlanabilmesi için majistral uygulamalar tercih

edilebilmektedir [21]. Mevcut ilaçların çoğu, tablet ve kapsül gibi katı dozaj şekilleri olarak formüle edilmektedir. Ancak, hastalara reçete edilen ve uygulanan ilaçların bir kısmı, etkinlik ve dozaj şekillerinin kullanılabilirliği açısından hastaların ihtiyaçlarını tam olarak karşılayamamaktadır. Bu sebeple hastaya özel durumlar için majistral ürünler gereklidir ve özellikle bazı hasta gruplarında farmasötik bakıma önemli katkıda bulunulabilir. Yeni doğan ve çocukluk dönemlerinde uygun ilaç şekillerini bulmada yaşanan zorluklar, nadir hastalıkların tedavisinde bazı ilaçların kullanılması majistral formüllerin reçete edilmesine yol açmaktadır. Eczacılar konvansiyonel ilaç dozaj birimlerini kullanarak farklı dozaj şekilleri geliştirebilir ve bu hastalar için önemli bir avantaj sağlamaktadır. Örneğin eczacılar, piyasada bulunan bir tableti toz ederek veya bir kapsül içeriğini kullanarak oral bir sıvı formülasyon hazırlamak amacıyla çeşitli yardımcı maddeler ile bu ürünleri çözebilir veya süspande edebilir veya daha farklı bir dozaj formuna getirebilir. Pereira ve ark. tarafından yapılan çalışmada ocak 2012'den aralık 2013'e kadar yeni doğan yoğun bakım ünitesi, kadın hastalıkları, pediatri ve pediatri acil servislerindeki hastalara ilişkin değerlendirilen hastanenin ilaç talep formları analiz edilmiştir. Değerlendirilen hastanenin yeni doğan ve pediatri hastalarının tedavisinde tarafından majistral oral solüsyonların ve süspansiyonların yaygın olarak kullanılması, bu hastanede pediatrik tedavi alternatifi olarak bu tür preparatlara ihtiyaç olduğunu ve bu preparatların tedavideki önemini ortaya koymuştur [4].

Çocuklar için uygun büyüklükte dozaj birimi elde etmek için bazen eczanelerde tabletlerin ikiye veya dörde bölünerek hastaya verildiği de bilinmektedir [21,22].

Majistral formülasyonların hazırlanması yüzyıllardır, eczacıların temel bir görevi olarak görülmektedir. Majistral hazırlama becerisi, birçok ülkede Eczacılık Topluluklarına kaydolmak için giriş düzeyindeki eczacıların ihtiyaç duyduğu yeterliliklerden biridir. Bunula birlikte, eczacıların kayıt öncesinde bu konudaki yeterliliklerini göstermeleri ve ilerleyen dönemlerde de bu yeterliliklerini korumaları ve devam ettirmeleri beklenmektedir [22].

SONUÇ

Majistral formülasyon, hastalar için kişiselleştirilmiş ilaç hazırlama sanatı ve bilimidir. Yetim hastalıklar, kişilerdeki fizyolojik farklılıklar ve kişiye özel ilaç tedavisinin hastanın tedaviye uyumunu ve tedavinin başarısını arttırması gibi farklı sebeplerle günümüzde de büyük önem taşımaktadırlar.

Majistral formülasyonlar; hastaların tedavi planlarının geliştirilmesine ve uygulanmasına eczacıların katkısını artırır, hastaya özel tedavi alternatifleri sunulabilmesini sağlar, doktorlarla birlikte eczacıların hastaların ihtiyaçları üzerinde özel olarak çalışılmasına olanak sağlarlar ve yüksek farmasötik kaliteye sahip kişiselleştirilmiş ilaçların elde edilmesini sağlar. Bunun sonucu olarak da, kişiye özel tedavilerin uygulanması yada hasta merkezli tedavi anlayışlarında eczacının önemini arttırırlar. Majistral formülasyon geliştirme işlemini sağlayan eczacılar, hastalara uygun

bir tedavi planı sağlamada yardımcı olabilecek özel ilaçlara ve dozaj şekillerine erişimde hastalara yardımcı olabilmektedirler. Majistral formülasyonların hazırlanması sırasında ilgili kalite standartlarına uygun etkili bir formülasyon elde edebilmek için bazı kritik işlem basamaklarına dikkat edilmesi gereklidir. Ulusal ve uluslararası farmakopeler bu anlamda majistral formüllere ait bulundurdukları monograflar ile majistral formül hazırlığında belirli bir protokole bağlı kalınmasını sağlamaktadır.

KAYNAKÇA

[1] Özsoy Y. USP ve BP'de Majistral Formülasyonlar. Majistral Zirve. 2018.

[2] Karavana SY. Majistral ilaçlarda yapılan hesaplamalar. Majistral Zirve. 2018.

[3] Arıcı M. Pediatride ve geriatride majistral ürünler, reçete hazırlama. Majistral Zirve. 2018.

[4] Pereira AC de S, Miranda ES, Castilho SR de, et al. Magistral drugs in hospitalized newborns and children. Revista Paulista de Pediatria (English Edition) 2016; 34: 403–407.

[5] Global Market Insights,Inc. (erişim 14/08/2020). https://www.globenewswire.com/newsrelease/2019/12/13/1960256/0/en/

[6] Vanhoorne, V., Peeters, E., Van Tongelen, I., Boussery, K., Wynendaele, E., De Spiegeleer, B., et al. Pharmaceutical compounding of orphan active ingredients in Belgium: how community and hospital pharmacists can address the needs of patients with rare diseases. Orphanet journal of rare diseases. 2019; 14(1):186.

[7] Davidson G. Veterinary compounding: Regulation, challenges, and resources. Pharmaceutics 2017;9(1):5.

[8] Gökçe EH. Majistral formülasyonların yapımında karşılaşılabilen geçimsizlik problemleri ve çözümleri. 5-8 Nisan 2018 Majistral Zirve, Dedeman Otel Konya, p. 4.

[9] Pekcan NA. Eczanelerde Majistral Üretim ve EGAŞ. Eczacının Sesi 27.08.2017, (Erişim 14.08.2020 http://eczacininsesi.com/index.php?yon=majistral&id=231).

[10] Türk Farmakopesi 2017, Sağlık Bakanlığı, Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu, Ankara, ISBN: 978-975-590-675-1, 2017, 4485-4557.

[11] The United States Pharmacopoeia 42 – National Formulary 37 2S, The United States Pharmacopeial Convention, Rockville, 2020.

[12] The British Pharmacopoeia, Volume III, Medicines and Healthcare Products Regulatory Agency, British Pharmacopoeia Commision, 2020.

[13] Siamidi A, Pippa N, Demetzos C. Pharmaceutical compounding: Recent advances, lessons learned and future perspectives. Global Drugs and Therapeutics 2017;2(2): 1-3.

[14] Erdem F, Bayrak HM. Farmakopelerde yer alan majistral formüller. Türk Farmakope Dergisi 2017; 2 (1): 52–58.

[15] R. Gazete: Tarih: 24/12/1953 Sayı: 8591 Eczacılar ve Eczaneler Hakkında Kanun

[16] R. Gazete: 12/04/2014 Sayı: 28970 Eczacılar ve Eczaneler Hakkında Yönetmelik.

[17] Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu, 27.10.2015 Tarihli İyi Eczacılık Uygulamaları Kılavuzu (Erişim 14.08.2020, https://www.titck.gov.tr/mevzuat/27-10-2015-tarihli-iyi-eczacilik-uygulamalari-kilavuzu-27122018172924).

[18] Loyd V Allen. Guidelines for compounding practices. The Art, Science, and Technology of Pharmaceutical Compounding 1998; 1–3.

[19] Marriott J, Wilson K, Langley CA, Belcher D. Pharmaceutical Compounding and Dispensing. 2nd ed. ISBN 978 0 85369 912 5, Pharmaceutical Press, 2010. pp.6-70.

[20] Türk Farmakopesi 2017, Sağlık Bakanlığı, Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu, Ankara, 2017, monograf numarası: TFM-01/2017:14902.

[21] Kolac T, Gurbuz P, Yetis G, Çırak ZD. Determination of pharmacy pharmacists and pharmacy employees' knowledge and attitudes about magistral drug preparation in Malatya/Turkey. Istanbul Journal of Pharmacy 2019;49:125–131.

[22] Kristina SA, Wiedyaningsih C, Widyakusuma NN, Aditama H. Extemporaneous compounding practice by pharmacists: A systematic review. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences 2017;9:42-46.

T.C. SAĞLIK BAKANLIĞI
TÜRKİYE İLAÇ VE TIBBİ CİHAZ KURUMU

DERLEME MAKALESİ

Türk Farmakope Dergisi 2020, 5(3): 43-56
© Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu 2020

TALASEMİ VE TEDAVİSİNE GENEL BİR BAKIŞ

Bilge Ahsen KARA[1*], H. Sinan SÜZEN[2]

1. T.C. Sağlık Bakanlığı, Ankara Gazi Mustafa Kemal Devlet Hastanesi, 06560, Yenimahalle-Ankara.

   elmek*: ahsndkyc@gmail.com

2. Ankara Üniversitesi Adli Bilimler Enstitüsü Müdürlüğü, Cebeci Tıp Fakültesi Yerleşkesi, 06590, Dikimevi-Ankara.

Geliş tarihi: 25.08.2020 / Kabul tarihi: 07.09.2020

ÖZET

Genetik kökenli hastalıklar dikkate alındığında dünyada en çok rastlanan hastalıklardan birisi olan talaseminin meydana gelme sebebi bir veya daha çok sayıda globin zincirinin sentezinin var olmaması veya az sentezlenmesidir. Retikülositler eşit miktarda α ve β zinciri ürettiği için olgun eritrositlerde her zincirden eşit miktarda molekül bulunmaktayken, talasemili hastalarda α ve β polipeptid zincirlerinden eşit miktarda üretilemediği için yeterli miktarda Hemoglobin-A (α2β2) bulunmamaktadır. Talasemiler alfa (α) ve beta (β) talasemi olmak üzere iki gruba ayrılır. Talasemi majörlü hastalarda başlıca karşılaşılabilecek sorunlar kalple, karaciğerle ve endokrin organlarla ilgili olabilmektedir. Bu sorunların tamamı demir birikimi ilişkilidir ve demir bağlayıcı ilaçların (şelatörlerin) düzenli kullanılması ile önlenebilir. Demir bağlayıcılar olan deferasiroks, deferipron ve deferoksamin içeren dozaj şekilleri talasemi tedavisinde kullanılan ilaçlardır. Bu derlemenin amacı talasemi hastalığı ve türleri hakkında bilgi verilmesi ile tedavide kullanılan ilaçlara ilişkin genel bir bilgi sunulmasıdır.

Anahtar kelimeler: Talasemi, Demir bağlayıcılar, Deferasiroks, Deferipron, Deferoksamin.

AN OVERVIEW OF TALASEMIA AND ITS TREATMENT

ABSTRACT

Considering genetic diseases, the reason for the occurrence of thalassemia, which is one of the most common diseases in the world, is that the synthesis of one ore more globin chains does not exist or is less synthesized. While reticulocytes produce equal amounts of α and β chains, mature erythrocytes contain equal amounts of molecules from each chain, whereas patients with thalassemia do not have sufficient amount of hemoglobin-A (α2β2) because they cannot produce equally from α and β polypeptide chains. Thalassemias are divided into two groups as alpha (α) and beta (β) thalassemia. The main problems that can be encountered in patients with thalassemia major may be related to the heart, liver and endocrine organs. All of these problems are related to iron accumulation and can be prevented by regular use of iron-chelators medicines. Medications with the dosage forms containing iron chelators such as deferasirox, deferiprone and deferoxamine are used in the treatment of thalassemia. The purpose of this review is to provide information about thalassemia disease and its types and to provide general information about the medicines used in its treatment.

Keywords: Thalassemia, Iron chelators, Deferasirox, Deferiprone, Desferrioxamine.

GİRİŞ

Talasemi kelime olarak Yunanca “haima” (kan) ve “thalassa” (deniz) sözcüklerinden türetilmiştir. “Beta talasemi” geninin kalıtımsal olarak geçtiği bir tür “kansızlık” hastalığı olan Talasemi yeryüzünde en sık rastlanan otozomal resesif hastalıkların başında gelmektedir. Genetik hastalıklar dikkate alındığında dünyada en çok rastlanan hastalıklardan birisi olan Talaseminin meydana gelme sebebi globin zincirinin veya birden çok globin zincirlerinin sentezinin var olmaması veya az sentezlenmesidir [1,2,3,4].

Alfa talasemili ve beta talasemili bireyler arasında bir takım farklılıklar bulunmaktadır. Karşılaştırma yapıldığında α-globin zinciri sentezinde bozukluk olduğunda Alfa talasemili bireyler ve β-globin zincir sentezinde bozukluk görüldüğünde beta talasemili bireyler söz konusudur. Alfa ve Beta talasemili bireyler, hangi tür globin zincir sentezinde bozukluk olduğuna göre isimlendirilir [1,5]. Talasemiyi tarihte ilk kez 1925 yılında pediyatrist Pearl Lee ve Thomas Cooley tanımlamıştır. Pearl Lee ve Thomas Cooley talasemiyi Akdenizden göç eden küçük yaştakilerde “Cooley anemisi” olarak ortaya çıkarmıştır. Cooley anemisi daha sonraları Akdeniz anemisi veya talasemi major olarak tanımlanmıştır. Talasemi hastalığının en yaygın belirtileri arasında büyüyen dalak, gelişmede gerilik, derin anemi ve kemiklerde deformite gelmektedir. Aynı yıllarda İtalya’da tanımlanan bir diğer hastalık ise şu anda talasemi intermedia olarak bilinmektedir. Rietti tarafından tanımlanan ve Cooley anemisi ile benzerlik gösteren talasemi intermedia hastalığı, Cooley

anemisine benzemekle beraber, bu hastalık ile kıyaslandığında semptomları daha hafiftir. Aynı dönemlerde büyük oranda Yunanistan, İtalya, Malta gibi çevre adaları kapsayan bir coğrafyada daha sık rastlanan talasemi hastalığı, zaman geçtikçe bu ülkelerin dışına da çıkmış, daha uzak ülkeleri de kapsayan (tropikal ülkeler vb.) geniş bir coğrafyada da tespit edilmiştir [6].

Yeryüzünde 190 milyondan fazla kişi genetik mutasyonlar ile bağlantılı farklı hemoglobinopatilere sahiptir. Bu kişilerin neredeyse yarısına yakını (%48) talaseminin oluşmasında ol oynayan kusurlu genlere sahiptir [7]. Bunun yanı sıra dünyada Asya ülkeleri ile birlikte Orta Doğu ülkeleri talasemi hastası yeni doğanların neredeyse tamamını oluşturmaktadır (%95 oran). Günümüzde de devam eden araştırmalar çerçevesinde 2000 - 2020 yılları arasında yaklaşık bir milyon talasemili hastanın dünyaya geleceği ön izlenmektedir [8,9]. Dünya üzerinde en sık rastlanan genetik bozukluk hastalığı talasemi hastalığıdır [10,11]. Günümüzde oldukça önemli bir klinik durum haline gelen talasemi hastalığı için en yüksek insidans Kıbrıs, Sardinya (İtalya) ve Güney Doğu Asya ülkelerinde kaydedilmiştir [2,3]. Dünyada bazı coğrafyalarda göç ve değişik etnik kimliklerin evlenmesi nedenleriyle talasemi hastalığı diğer bölgelere göre daha yaygın olarak görülür. Sıtma hastalığının endemik şekilde görüldüğü bölgelerde olduğu gibi talasemi hastalığına Güney Amerika, Kuzey Amerika ve Kuzey Avrupa'da daha fazla rastlanır [12].

Yunanistan, İtalya gibi Akdeniz ülkelerinde de olduğu gibi Türkiye'de talasemi hastalığının görülme sıklığı oldukça fazladır. Ülkemizde en yüksek oranda görülen genetik hastalıkların başında gelen talasemi Hastalığının ülkemizde yaklaşık 1.5 milyona yakın taşıyıcısı ve 5000'e yakın talasemi hastalığı olduğu bildirilmektedir. Türkiye nüfusu ile karşılaştırıldığında talasemi hastalığının görülme oranı ülke genelinde %2 olarak rapor edilmiştir. Buna karşılık bazı bölgelerimizde (Ege ve Akdeniz) %2 olarak rapor edilen oran %10'lara kadar çıkabilmektedir [13, 14]. Talasemi, genetik olarak hemoglobin molekülünü oluşturan globin zincirlerinin birinin ya da birden fazlasının sentezindeki azalma veya tamamen kaybolmasına bağlı ortaya çıkan ve otozomal resesif geçiş gösteren genetik bir hastalıktır. Ayrıca etkin olmayan eritropoez ve aşırı kırmızı kan hücresi hemolizi anemiye neden olur [1,15].

Talasemi Tipleri

Retikülositler eşit miktarda α ve β zinciri ürettiği için olgun eritrositlerde her zincirden eşit miktarda molekül bulunmaktayken, talasemili hastalarda α ve β polipeptid zincirlerinden eşit miktarda üretilemediği için yeterli miktarda Hemoglobin-A (α2β2) bulunmamaktadır.

Talasemiler Alfa (α) ve Beta (β) talasemi olmak üzere iki gruba ayrılır. Hemoglobin tetramerini meydana getiren globin zincirindeki yetersizlikler ve ya dengesizlikler talasemi tiplerinde ortak özellik olmaktadır [15].

α -Talasemi

Alfa talasemi en yaygın hemoglobin genetik anormalliklerindendir ve α-talasemili kişiler α zincirlerinin yetersiz yapımıyla karakterize edilir. Alfa talasemi sıtmanın epidemik olduğu bölgeler olarak bilinen tropikal ve subtropikal dünya bölgelerinde yaygındır ve hemoglobinopati taşıyıcılığının sıtmaya karşı seçici bir avantaj sağlayarak koruduğu düşünülür [16,17].

Sessiz α-talasemi taşıyıcı tipi, α -globin alellerinden birinin işlev görmemesine bağlı oluşur. Geriye kalan üç fonksiyonel alel yeterli miktarda α-globin zinciri sentezlenir. Bu sebeple klinik fenotipleri asemptomatiktir. Kişilerin Hb, hematokrit ve ortalama eritrosit hacmi normaldir. Klinik olarak herhangi bir sorunla karşılaşılmadığı için tam kan sayımı yapılmadığı sürece hayat boyunca fark edilmeyip saptanamayabilir [18].

α- talasemi taşıyıcı tipi, iki α-globin alelinin işlev görmemesine bağlı olarak ortaya çıkar. Yeterli miktarda α globin sentezlenemez ve buna bağlı olarak Hb-A miktarı ile eritrositlerdeki Hb içeriği azalır. Klinik olarak hafif anemi, mikrositoz ve hipokromi görülür [19].

Hb-H Hastalığı

Klinik ve hematolojik açıdan değişkenlik gösteren Hb-H hastalığı üç α -globin alelinin işlev görmemesine bağlı olarak ortaya çıkar [20]. Hastalarda %30 daha az α -globin sentezlenirken β-globin sentezi normal olarak devam eder. Bu sebeple Hb molekülünde yüksek miktarda β -globin zinciri bulunur ve β4 tetramerini oluşur. Hb-H hastalığının en belirgin klinik semptomları hemolitik anemi, hepatosplenomegali, derecesi farklılık gösteren sarılık ve orta α-talasemi benzeri kemik modifikasyonlarıdır. Bazen bu tabloya periferal kandaki Hb-Bart eşlik eder. Ayrıca Hb-H küçük yaştakilerde gelişme azlığına neden olabilir. Diğer komplikasyonlar içinde enfeksiyonlar, bacak ülserleri, safra taşları ve folik asit azlığı bulunur [9,21].

α -talaseminin en ağır formu olan Hb- Bartıs Hidrops Fetalis Sendromu dört alfa alelinin de işlev görmemesine bağlı ortaya çıkandır. Hb- Bartıs Hidrops Fetalis Sendromlu infantların eritrositlerinde alfa zincir sentezlenemediği için fizyolojik olarak fonksiyonel olmayan γ4 ve β4 tetramerleri oluşur. Bu infantlarda fonksiyonel olan Hb, embriyonik Hb- Portland (ζ2γ2) olup bireylerde değişik miktarlarda bulunur ve O_2 taşıyarak infantların canlı kalmasını sağlayan tek Hb çeşitidir. Klinik belirtileri yaygın ödem, kalp yetmezliği ve uzamış intrauterin anemidir. Klinik özelliklerin içinde hepatosplenomegali, beyin gelişiminde gerileme, plesanta büyümesi, iskelet ve kalp-damar deformiteleri de yer alır. Hb- Bart's Hidrops Fetalis Sendromlu infantlarda ya gebeliğin 23-38. haftasında düşük gözlenmekte ya da doğumdan hemen sonra ölüm oluşur. Bununla birlikte literatürde sayısı az da olsa yaşayan Hb- Bart's Hidrops Fetalis vakaları bulunmaktadır. Bu durumdaki hastalara yoğun yaşam destek tedavileri ve kan transfüzyon uygulamaları yapılır [1,22, 23,24].

β -Talasemi

Hemoglobin (Hb) tetramerindeki β-globin zincirlerinin sentezlenememesi ya da eksik senteziyle karakterize edilen β-talasemi, kalıtsal olarak aktarılabilen bir kan hastalığıdır. β -globin geni 11. kromozomun p15.5 bölgesinde yer alır ve δ globin geni, embriyonik ε geni, fetal Aγ ile Gγ genlerini kapsayan 80 kilobaz uzunluğundaki DNA bölgesinde lokalizedir [12].

Farklı talasemi alellerinin oluşmasında nokta mutasyonları major rol oynar. Bu nokta mutasyonları üç farklı kategoride incelenir [25]:

- β gen transkripsiyonunda hataya sebep olan promotor mutasyonları ve 5ıUTR (translasyon olmayan bölge) mutasyonları.
- Splice-junction mutasyonları ve mRNA sürecini etkilemekte olan 3'UTR mutasyonları.
- Anormal mRNA translasyonuna sebep olan non-sense, çerçeve kayması ve başlama kodon mutasyonları.

Beta Talasemide Klinik Semptomlar

Klinik Semptomlara göre β talasemi üç sınıfa ayrılır:

1.Talasemi Major (Homozigot β Talasemi)

Cooley anemisi veya homozigot β talasemi olarak bilinen talasemi major, klinik olarak en önemli talasemi türüdür. 11. kromozomda yer alan β-talasemi geninin homozigot ya da birleşik heterezigot aktarılması ile oluşur. (kişiler iki β talasemi aleline sahiptir). Hayatta kalabilmek için talasemi majorlu hastalar yaşamlarının ilk iki senesinde kan transfüzyonuna başlar ve yaşamları boyunca düzenli olarak transfüzyona devam gerekir. Düzenli transfüzyon almayan bireylerin ise yaşamları ölümle sonuçlanır. Ayrıca düzenli transfüzyonlar ve inefektif eritropoez sonucunda vücutta demir yükünün artmasına bağlı olarak demir toksisitesi görülür. Bu sorunun üstesinden gelebilmek için de hastalara uygun şelasyon yöntemleri uygulanması gerekmektedir. β talasemi majorlu hastaların belirgin özellikleri kasların zayıflaması, büyüme geriliği, sarılık, hepatosplenomegali ve deride kahverengi pigmentasyondur. İskelet yapısında bacaklarda yapı bozukluğu ve kraniyofasial değişiklikler gibi önemli deformaliteler görülebilmektedir. Kraniyofasial değişiklikler içinde alın ve yanak kemiklerinin belirgin olarak ortaya çıkması, maksillar kemikte hipertrofi ve burun köprüsünde çökme yer alır. Ayrıca yüzde belirgin bir mongoloid şekil mevcuttur [9,12]. Hastalarda şiddetli mikrositik ve hipokromik anemi görülür. Ayrıca ortalama eritrosit hacminde (MCV) ve ortalama eritrosit hemoglobininde (MCH) azalma oluşur. Bunlara ek olarak periferik kan yaymada anisositosiz ve poikilositoz görülür [1,12].

2. Talasemi İntermedia

Talasemi intermedia, β talaseminin ara formudur. Tedavi hastalığın gidişine bağlı olarak değişmekle beraber çoğu zaman transfüzyona ihtiyaç az olmaktadır. Talasemi intermedia hastalarında talasemi minöre yakın bir seyirden talasemi majöre yakın bir tabloya kadar değişebilen heterojen bir klinik seyir söz konusudur. Dolayısıyla hastadan hastaya farklı semptomlar izlenmektedir. Bu semptomlar içerisinde anemi, sarılık, safra kesesi taşı, karaciğer ve dalak büyümesi, iskelet yapısında değişiklikler ve trombotik komplikasyonlar yer alır [1,9,26].

3. Talasemi Minör (Heterezigot Beta Talasemi)

Talasemi minor, heterozigot β talasemi ya da β talasemi taşıyıcısı olarak da bilinir ve β talasemi geninin heterozigot taşınması durumunda görülür. Hatalı genin görevini yapan bir de sağlam gen bulunduğundan, en hafif seyir gösteren β talasemi türüdür. β talasemi taşıyıcıları mikrositoz, hipokromi, artan Hb -A2 düzeyi, hafif ya da minimal anemi gibi karakteristik hematolojik özellikleri taşır. Klinik olarak asemptomatiktir ve spesifik bir tedavi uygulanmasına ihtiyacı bulunmamaktadır [12]. Infertilite, hepatobiliyer, endokrinopati, hipersplenizm, kardiyopulmoner ve kas-iskelet hastalıkları β- talasemi hastalarında sık görülen komplikasyonların başında gelmektedir. β -talasemi hastalarında sık görülen komplikasyonlarının nedenleri arasında, kemik iliğinin fazlaca uyarılma durumu, eritropoezin yeter düzeyde bulunamaması, demir yükü kapasitesinin fazlalaşması, antioksidan ve oksidan denge düzeyinin anormalleşmesi ile doğrudan bağlantılıdır [27,28]. Hastalarda görülen bu komplikasyonların sayısı kan transfüzyonuyla büyüme ve gelişim sağlanıp minimum düzeye indirgenebilse de tedavi sırasında ortaya çıkan demir yükü β- talasemi hastaları için çok önemlidir.

Duodenal demir emilimi sağlıklı bir bireyde günlük yaklaşık 1-2 mg olarak ölçülmüştür. Talasemi intermedialı hastaların çok büyük bir bölümünde tedavi esnasında kan transfüzyonu yapılmamış olmasına rağmen normal düzeylerin ötesinde demir emilimiyle vücutta demir yükünde artma izlenmektedir. (3-9 mg/gün) [29]. Bu sebepten dolayı kan transfüzyonu ve gastrointestinal demir emilimlerinde meydana gelen artma organlarda önemli problemlere yol açmaktadır [1].

Talasemide Kalıtım

Talasemi otozomal resesif geçişlidir. Yani çekinik genlerle aktarılır. Hastalık geninin hem anneden hem babadan alınmasıyla hastalık gerçekleşmekte, ebeveynlerin hasta veya taşıyıcı olmasına göre diğer olasılıklar aşağıdaki şekildedir [30]:

- Hastalık genini anne veya babadan biri taşıyorsa, doğacak her çocuğun %50 taşıyıcı %50 sağlıklı olma olasılığı,

- Hem anne hem babanın taşıyıcı olması durumunda, doğacak her çocuğun %25 sağlıklı, %50 taşıyıcı ve %25 hasta olma olasılığı
- Anne veya babadan biri hasta, diğeri taşıyıcı ise, doğacak her çocuğun %50 taşıyıcı ve %50 hasta olma olasılığı vardır.

Talasemide Tanı

Talasemi tanısı, tam kan sayımı, periferik yayma (kan hücrelerinin mikroskopta bakılması), hemoglobin elektroforezi gibi çok basit ve kolay kan testleri ile konulabilmektedir. Prenatal tanı gerekliliği durumunda genetik çalışmalar kan örneklerinden yapılmaktadır. Doğum öncesinde yapılan prenatal tanı işlemi üç farklı şekilde yapılabilmektedir [30];

- Koryonik Villus Biopsisi; İnce bir iğne ya da kanülle, ultrason eşliğinde koryon tabakasından örnek alınması esasına dayanır. Gebeliğin 10-12. haftalarında yapılabilir. Bu yöntem %1-3 düşük, annede kanama vd. sorunların gelişme riskini barındırır.
- Amniosentez: Ultrason eşliğinde amnion sıvısından 10-20 mL örnek alınarak, genetik incelemenin yapılması esasına dayanır. Gebeliğin 16. haftasından itibaren 22. haftaya kadar yapılabilir. %0.5-2 arasında değişen düşük, erken doğum ve enfeksiyon riski barındırır.
- Kordosentez: Ultrason eşliğinde fetüsün göbek kordonundan anne karnındayken kan örneği alınması esasına dayanır. Gebeliğin 18. haftasından itibaren uygulanabilir. Bu yöntem %1-3 düşük riski barındırır.

Talasemili Hastalarda Gelişebilecek Sorunlar

Endokrinopati

Puberte gecikmesi, bozulmuş glikoz toleransı, büyüme geriliği ve osteoporoz gibi endokrinopatiler talasemili hastalarda oldukça sık gelişebilmektedir. Demir yükündeki artışın sonucu olarak gonadotropin azlığı meydana gelebilmektedir ve talasemi hastalarında sıkça görülen komplikasyonların başında hipogonadizm gelmektedir [28,31,32]. Endokrinopatiye rastlanma nedenlerinin başında çinko azlığı ve ön hipofiz bezinin etkilenmesi bulunmaktadır. Artan demir yükü ile ön hipofiz bezi etkilenmekte ve bu etkileşim ile büyüme hormonu azlığı izlenmektedir [33]. Hipogonadizm büyüme sürecini etkilediği gibi diğer yandan interfetiliteye de neden olabilmektedir. Tüm bunlar göz önüne alındığında β-talasemi hastaları için erken tanı ve uygun tedavi alınması kritik öneme sahiptir. Diğer tedavi yöntemleri arasından yer alan hormon tedavisi büyümenin normalleşmesi ve pubertenin uyarılması için yapılmaktadır. Merchant ve ark., araştırmalarında yaş aralıkları 13 ve 16 arasında bulunan ve %60'ı puberteye erişemeyen 35 talasemili hasta bildirilmiştir [34]. Yaşları 13-16 arasından bulunan β-talasemili hastalara hormon tedavisi uygulanmış ve

hormon tedavisine ilave olarak demir yükü artışı engellenerek hastaların boylarında uzama ve puberteye girişleri tespit edilmiştir. Bunun yanı sıra çinko da β-talasemili hastalarda hipogonadizm gelişmesinde kritik öenem sahiptir [28,35]. Bu sebeple hormon tedavisi alan talasemili hastalar için belirli ölçülerde çinko takviyesi önerilmektedir [1,28].

Hipersplenizm

Dalak bağışıklık sistemini korumasının yanı sıra, yaşamlarının sonuna gelen kan hücrelerini parçalayıp, vücudumuzun dolaşım sisteminden uzaklaşmaları gibi görevleri de üstlenen bir yapıya sahiptir. Parçalanmış hücreden çıkan demir vücut hücrelerinin tekrar yapımında kullanılmaktadır. Bu sebepten dolayı, dalak olgun eritrositlerin dönüştürülme sürecinde kritik rol oynamaktadır. Talasemili hastaların birçoğunda demirin geri kullanım sürecinde problem izlenmektedir ve nihayetinde dalak giderek büyüyüp β- talasemi hastalarında oldukça fazla karşılaşılan bir komplikasyona dönüşebilmektedir. Hipersplenizm lökopeni, trombositopeni ve artan transfüzyon ihtiyacı ile doğrudan bağlantılıdır. Splenomegali karşılaşılan hastalara kan transfüzyonu gereksinimini indirgemek üzere splenektomi uygulanmaktadır. Ancak bu uygulamanın platelet aktivasyonu [26], ve trombin üretiminin uyarılması ve hemoliz miktarının artışı gibi önemli yan etkileri bulunmaktadır [36]. Bu sonuçlarından dolayı dalağın bir kısmı çıkarılarak splenektominin meydana getireceği komplikasyon önlenebilmektedir [1].

İnfertilite

β -talasemi hastası kadınlar incelendiğinde kan transfüzyonu sonrasında endokrin organlarda demir yığılması ile ortaya çıkan fertilite sorunları sıkça karşımıza çıkabilmektedir. Bunun yanında, günümüzde tedavilerdeki iyileşmeler ve gelişmeler sonucunda talasemili kadınlarında hamile kalma oranlarında artışlar izlenmektedir. Talasemi majorlu hamile kadınların hemoglobin düzeyleri minimum 10 g/dL seviyesinde tutulmalıdır ve bu duruma uygun olarak kan transfüzyonları uygulanmalıdır. [37]. Kardiyak disfonksiyon tanısı olan bayanlardaki hamilelik süresince kardiyak fonksiyonları değerlendirilmelidir ve klinik değerlendirilme yapılmadan gebelik önerilmemelidir [37, 38]. Talasemi hastalarına hamilelik esnasında desferoksamin ile (DFO) demir şelasyon tedavi şekli uygulanması önerilmemektedir. [37,39]. Ancak karaciğer ve kalpte demir birikme riski taşıyan talasemi hastalarına desferal ile şelasyon tedavi seçeneği 2. trimestere yakın olarak uygulanabilir [39]. Gebelik sonrasında ise bebeklere düzenli olarak kan transfüzyonları ve gerekli şelasyon tedavi olanağı sağlamak gerekmektedir [1].

Hepatobilyer Hastalıklar

Düzenli olarak kan transfüzyonu uygulanan talasemi hastalarında birincil demir birikiminin ortaya çıktığı organ karaciğerdir. Kan transfüzyon nedeniyle demir konsantrasyonun kabul edilebilir düzeyi

geçmesi dokuların harap olmasına, kollajen meydana gelmesine ve portal fibrozise sebep olan hepatoselüler hasarların oluşmasına sebebiyet vermektedir [40]. Bunlardan farklı komplikasyon düşünüldüğünde talasemi hastalarının safra keselerinde de taş oluşma riski yüksektir. Fibrotik doku oluşumunun karaciğerde siroz meydana gelme riskini artırdığı bilinmektedir. Bazı enfeksiyonların (Hepatit C virüsü) karaciğer organında fibrogenez oluşumunu daha da artırdığı bildirilmektedir. Bunun yanı sıra karaciğerde demir konsantrasyonunun 7 mg/gün değerinden yukarı çıkması mortalite ve morbiditeye sebep verebilmektedir [40]. Bundan dolayı, β- talasemi hastalarında demir yükünün minimize edilmesi kritik öneme sahiptir. Uygun demir şelasyon metotları ile karaciğer organındaki demir yükü ve fibrozisi azalma göstermektedir [1].

Kas-İskelet Sistemi Bozuklukları

Tedavi sırasında kan nakli yapılan ve bunun yanı sıra düzenli demir şelasyon uygulaması gerçekleştirilen β- talasemili hastaların bir kısmında osteopeni ve osteoporoz gibi bir takım kemik hastalıkları görülmeye devam etmektedir [31]. Talasemi hastalığı ile ilgili yapılan çalışmalar ışığında talasemi majör hastalarında bu kemik bozuklukların meydana gelmesini birçok etken belirleyebilmektedir. Yoğun olarak demir şelasyon tedavi protokolü gören ve optimal transfüzyon alan kemik erimesi tanısı bulunan talasemi hastaları için bifosfonat tedavi planı ve hormon replasman tedavi planı uygulanmaktadır. Araştırmalar neticesinde bifosfonat tedavi protokolü gören β- talasemi hasta nüfusunun kemik mineral yoğunlukları ölçüldüğünde önemli düzelmeler tespit edilmiştir [41]. Başka araştırmalar da göstermiştir ki hormon replasman tedavi planı alan β- talasemi hasta nüfusunun aynı tedaviyi görmeyen gruba kıyasla kemik yoğunluğunda önemli iyileşmeler tespit edilmiştir [42]. Bunun yanı sıra β- talasemi hasta nüfusuna kalsiyum takviyesi ve D vitamini de tavsiye edilmektedir [1].

Kardiyopulmoner Bozukluklar

Kardiyak anormallik β- talasemili kişilerin ölüm sebepleri arasında ilk sıralarda yer almaktadır. Önemle vurgulanmalıdır ki demir birikimi kalp yetmezliğine yol açabileceğinden, β-talasemili kişilerin %75'ine yakınında ölüme sebebiyet verebilmektedir ve ayrıca bahsi geçen kişilerin büyük bir çoğunluğu 25-30 yaş arasında hayatını kaybetmektedir [43]. En çok rapor edilen kardiyak hastalıklar arasında diyastolik disfonksiyonlar, pulmoner hipertansiyon, sol ventriküler sistolik disfonksiyonu, perikardit ve valvulopatiler, kardiyak aritmiler gelmektedir. Kardiyomiyopatiler bozukluklar endokrin disfonksiyon, koagülasyon anomalileri, inflamatuvar yanıtta ve demir yükündeki artma gibi birçok sebebin neticesinde ortaya çıkmaktadır. Bunun yanı sıra demir yükü artması, oksidatif stres ve hemoliz β- talasemi hastalarında mortalite ve morbiditeye sebep olan sekonder pulmoner hipertansiyonun ortaya çıkmasında büyük paya sahiptir. Demir yükü artması β- talasemili hastalarda lipit peroksidasyon ve Reaktif Oksijen Türleri (ROS) oluşmasını katalizler

ve hücrelerin ölmesi suretiyle kardiyak disfonksiyonlara sebep olabilir [36, 44]. Demir yükü artması bununla beraber interstisyel kardiyak hemosiderozisi ve pulmoner fibrozisi uyarabilir ve pulmoner damar sağlığını etkiler [45].

Kardiyak komplikasyon oluşmasını tespit edebilmek için belirteç olarak serum ferritin tercih edilmektedir. Uygun şelasyon tedavisinin verimliliği için erken teşhis çok önemlidir [36]. Optimum transfüzyon tedavi planı ve şelasyon tedavi planındaki uyum, kardiyak komplikasyonun engellenmesi anlamında kritik öneme sahiptir. Tedavi uygulama esnasında hemoglobin düzeyinin minimum 9.5 g/dL, ferritin düzeyinin ise 2.500 ng/mL'den küçük olmaması son derece önemlidir [27,38].

Oral antikoagülan ya da antiplatelet, oksijen tedavisi ve Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi onaylı pulmoner hipertansiyon ilaçları özellikle pulmoner hipertansiyonu olan β- talasemi hastalarına uygun yardımcı tedavi planları arasında sayılabilir [1,36,38,44,45].

Talasemide Tedbir ve Tedavi Yaklaşımları

Talaseminin ebeveyn geçişli olması nedeniyle çiftlerin evlilik öncesi talasemi taşıyıcılığı açısından test yaptırması, özellikle taşıyıcılığın yüksek oranda görüldüğü bölgelerde hasta ve taşıyıcı bireylerin tespiti, toplumun talasemi konusunda eğitimi ve akraba evliliklerinin riskleri açısından bilgilendirilmesi genetik geçişli hastalıklarda alınabilecek tedbirler arasındadır. Çiftlerin taşıyıcı olması durumunda gebelik öncesinde gerekli tetkiklerin yapılması, her gebeliğin erken döneminde doktora başvurularak gerekli tetkiklerin yaptırılması diğer yaklaşımlardır [30].

Talaseminin yaygınlaşmasının önüne geçmek için talasemi eğitiminin bilişim kanallarından yapılabileceği, DNA analizinin maliyetindeki sürekli azalma, tarama işleminin ilk adımı olarak uygulanmasında etkili olacağı, bilinen tüm alfa ve beta talasemileri ve ayrıca DNA polimorfizmlerini tespit etmek için hedeflenen mikroçip teknolojisinin kullanılmasının fenotipi tahmin etmek için yararlı olacağı ve böylece ön hematolojik analizi atlamayı mümkün kılacağı düşünülmektedir [46].

Talasemi hastalarında demir birikimi sorunlarına bağlı olumsuzlukları önlemek amacıyla demir bağlayıcı ajanların kullanımı gerekmektedir. Karaciğer, demirin en erken biriktiği organ olmakla beraber yenilenen bir organ olması nedeniyle sıklıkla, sadece çok ağır demir birikimi olan hastalar bu durumdan etkilenmektedir. Demir, yeterince demir bağlayıcı ajan (şelatör) kullanmayan hastalarda genellikle 10'lu yaşlardan sonra kalpte de birikmeye başlar. Sıklıkla kalp yetmezliği bulguları aşırı derecede demir biriken hastalarda gelişir. Hafif ya da orta derecede demir birikimi olan hastalarda, yeterince ve uygun şelatör kullanılmaması durumunda kalp yetmezliği ve aritmi gelişebilir. Talasemi majörlü hastalarda hipogonadizm kaynaklı boy kısalığı hastaların %30'unda, kan şekeri problemleri %10'unda ve hipotiroidizm hastaların %3'ünde izlenmektedir [30].

Talasemi majörlü hastalarda demir şelatörlerine en az 10-20 transfüzyon aldıktan ya da serum

ferritin değeri 1000 ng/mL'nin üzerine çıktığında başlanılır. Bu nedenle hastaların serum ferritin ölçümlerine erken dönemde bakılması önerilir. Talasemi intermedialı hastalarda serum ferritini 800 ng/mL'nin üzerinde ya da karaciğer demiri belli bir düzeyin üzerine çıktığında başlanır [30].

Tedavide üç demir şelatörü olan desferoksamin, deferipron ve deferasiroks kullanılır. Bunlardan deferipron ve deferasiroks oral yolla kullanılırken, desferoksamin deri altı pompa aracılığıyla ya da intravenöz olarak uygulanır. Desferoksamin alan hastalarda ilaçla beraber vitamin C verilmesi etkinliği artırır. Desferoksamin ve deferasiroks 2 yaşından sonra, deferipron 6 yaşından sonra kullanılabilir. Kalpte aşırı derecede demir birikimi olan hastalarda deferipron ve desferoksaminin bir arada kullanılması önerilir [30].

SONUÇ

Günümüzde genetik hastalıklardan dünyada en sık rastlanılanlar arasında yer alan talasemi bireylerin yaşam kalitesini önemli ölçüde etkilemektedir. Hastaların takip ve tedavileri kadar hastalığın aktarımına ilişkin toplumsal farkındalığın artırılması da önemlidir. Toplumsal farkındalığın arttırılması amacıyla genetik hastalıklara ilişkin bilgilendirmede eğitim ve iletişim mecralarının kullanımı ileriye yönelik toplumda genetik hastalıkların görülme sıklığını azaltma dolayısıyla sağlık ve ekonomik yönden refaha katkı sunacaktır.

KAYNAKÇA

[1] Kara BH. GST OMEGA 1 ve OMEGA 2 GEN polimorfizmlerinin talasemi hastalarındaki kan metal düzeylerine etkisi. Doktora Tezi, Ankara Üniv. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2019.

[2] Flint J, Harding RM, Boyce AJ, Clegg JB. 1 The population genetics of the haemoglobinopathies. Baillière's Clinical Haematology, 1998; 11: 1-51.

[3] Galanello R, Origa R. Beta-Thalassemia. Orphanet Journal Of Rare Diseases, 2010; 5: 11.

[4] Weatherall DJ, Miller LH, Baruch DI, Marsh K, Doumbo OK, Casals-Pascual C et al, Malaria And The Red Cell. Ash education program book, 2002; 35-57.

[5] Weatherall DJ, Clegg JB. Inherited haemoglobin disorders: An increasing global health problem. Bulletin Of The World Health Organization, 2001; 79: 704-712.

[6] Vallance H, Ford J. Carrier testing for autosomal-recessive disorders. Critical Reviews In Clinical Laboratory Sciences, 2003; 40: 473-497.

[7] Ambekar SS, Phadke MA, Balpande DN, Mokashi GD, Khedkar VA, Bankar MP et al. The prevalence and heterogeneity of beta thalassemia mutations in the western Maharashtra

population: a hospital based study. International Journal of Human Genetics, 2001; 1: 219-223.

[8] Lorey F, Charoenkwan P, Witkowska H, Lafferty J, Patterson M, Eng B, et al. Hb H Hydrops Foetalis Syndrome: a case report and review of literature. Br J Haematol, 2001; 115: 72–78.

[9] Weatherall DJ, Clegg JB. Inherited haemoglobin disorders: an increasing global health problem. Bulletin of the World Health Organization, 2001; 79: 704-712.

[10] Pan HF, Long GF, Li Q, Feng YN, Lei ZY, Wei HW et al. Current status of thalassemia in minority populations in Guangxi, China. Clinical Genetics, 2007; 71: 419-426.

[11] Quek L, Thein SL. Molecular therapies in B-Thalassaemia. British Journal Of Haematology, 2007; 136: 353-365.

[12] Cao A, Galanello R. Beta-thalassemia. Genetics in medicine, 2010; 12: 61.

[13] Başak Nazı A. The molecular pathology of β-thalassemia in Turkey: The Boğaziçi University experience. Hemoglobin, 2007; 31: 233-241.

[14] Canatan D, Kose MR, Ustundag M, Haznedaroglu D, Ozbaş S. Hemoglobino pathy control program in Turkey. Community Genet, 2006; 9: 124-126.

[15] Marengo-Rowe AJ. Structure-function relations of human hemoglobins. In Baylor University Medical Center Proceedings, 2006; 19(3): 239–245.

[16] Bernini LF. Geographic distribution of á thalassemia: In Steinberg MH, Forget B, Higgs DR, Nagel RL, eds. Disorders of hemoglobin. Genetics, pathophysiology, and clinical management, 2001.

[17] Higgs DR. The molecular basis of α-thalassemia. Cold Spring Harbor Perspectives In Medicine, 2013; 3: A011718.

[18} Harteveld CL, Higgs DR. α-thalassaemia. Orphanet Journal Of Rare Diseases, 2010; 5: 13.

[19] Galanello R, Cao A. Alpha-thalassemia. Genetics in medicine, 2011; 13: 83.

[20] Origa R, Galanello R, Ganz T, Giagu N, Maccioni L, Faa, G et al. Liver iron concentrations and urinary hepcidin in β-thalassemia. Haematologica, (2007); 92: 583-588.

[21] Laosombat V, Viprakasit V, Chotsampancharoen T, Wongchanchailert M, Khodchawan S, Chinchang W et al. Clinical features and molecular analysis in Thai patients with Hbh disease. Annals Of Hematology, 2009; 88: 1185-1192.

[22] Beaudry MA, Ferguson DJ, Pearse K, Yanofsky RA, Rubin EM, Kan YW. Survival of a

hydropic infant with homozygous α-thalassemia-1. The Journal Of Pediatrics, 1986; 108: 713-716.

[23] Bianchi DW, Beyer EC, Stark AR, Saffan D, Sachs BP, Wolfe L. Normal long-term survival with α-thalassemia. The Journal Of Pediatrics, 1986; 108: 716-718.

[24] Yi P, Chen Z, Zhao Y, Guo J, Fu H, Zhou Y et al. Pcr/Ldr/Capillary electrophoresis for detection of single-nucleotide differences between fetal and maternal DNA in Maternal Plasma. Prenatal Diagnosis, 2009; 29: 217-222.

[25] Nienhuis AW, Nathan DG. Pathophysiology and clinical manifestations of the β-thalassemias. Cold Spring Harbor Perspectives In Medicine, 2012; 2: A011726.

[26] Eldor A, Rachmilewitz EA. The hypercoagulable state in thalassemia. Blood, 2002; 99: 36-43.

[27] Muncie JH, Campbell J. Alpha and beta thalassemia. American Family Physician, 2009; 80: 339-344.

[28] Perera NJ, Lau NS, Mathews S, Waite C, Ho PJ, Caterson ID. Overview of endocrinopathies associated with β-thalassaemia major. Internal Medicine Journal, 2010; 40: 689-696.

[29] Hershko C, Konijn AM, Link G. Iron chelators for thalassaemia. British Journal of Haematology, 1998; 101: 399-406.

[30] Talasemi hasta kılavuzu. Türk Hematoloji Derneği, 26.07.2020 tarihinde http://www.thd.org.tr/THD_Halk/?sayfa=talasemi adresinden erişildi.

[31] Chatterjee R, Bajoria R. New concept in natural history and management of diabetes mellitus in thalassemia major. Hemoglobin, 2009; 33(Sup1): S127-S130.

[32] Raiola G, Galatı MC, De VS, Caruso MN, Pintor C, De MS et al. Growth and puberty in thalassemia major. Journal Of Pediatric Endocrinology Metabolism: Jpem, 2003; 16: 259-266.

[33] De Sanctis V, Soliman AT, Elsedfy H, Skordis N, Kattamis C, Angastiniotis M et al. Growth and endocrine disorders in thalassemia: the international network on endocrine complications in thalassemia (I-Cet) position statement and guidelines. Indian Journal Of Endocrinology And Metabolism, 2013; 17: 8.

[34] Merchant RH, Joshi A, Ahmed J, Krishnan P, Jankharia B. Evaluation of cardiac iron load by cardiac magnetic resonance in thalassemia. Indian pediatrics, 2011; 48: 697.

[35] Chatterjee R, Katz M, Bajoria R. Use of hormone replacement therapy for correction of high turnover bone disease in hypogonadal β-thalassemia major patients presenting with osteoporosis: comparison with idiopathic premature ovarian failure. Hemoglobin, 2011; 35: 653-658.

[36] Barnett CF, Hsue PY, Machado RF. Pulmonary hypertension: an increasingly recognized complication of hereditary hemolytic anemias and HIV infection. Jama, 2008; 299: 324-331.

[37] Patel HV, Qari M, Mousa SA, Bloemen S, Laat BD, Hemker HC et al. Iron balance in β-thalassemia: maintaining an antioxidant/oxidant ratio. J Appl Hematol, 2012; 3: 4-11.

[38] Cogliandro T, Derchi G, Mancuso L, Mayer MC, Pannone B, Pepe A et al. Guideline recommendations for heart complications in thalassemia major. Journal Of Cardiovascular Medicine, 2008; 9: 515-525.

[39] Origa R, Piga A, Quarta G, Forni GL, Longo F, Melpignano A et al. Pregnancy and β-thalassemia: an Italian multicenter experience. Haematologica, 2010; 95: 376-381.

[40] Deugnier Y, Turlin B, Ropert M, Cappellini MD, Porter JB, Giannone V et al. Improvement in liver pathology of patients with β-thalassemia treated with deferasirox for at least 3 years. Gastroenterology, 2011; 141:1202-1211.

[41] Skordis N, Ioannou YS, Kyriakou A, Savva SC, Efstathiou E, Savvides I et al. Effect of bisphosphonate treatment on bone mineral density in patients with thalassaemia major. Pediatric endocrinology reviews: PER, 2008; 6: 144.

[42] Lasco A, Morabito N, Gaudio A, Buemi M, Wasniewska M, Frisina N. Effects of hormonal replacement therapy on bone metabolism in young adults with beta-thalassemia major. Osteoporosis International, 2001; 12: 570-575.

[43] Maggio A, Filosa A, Vitrano A, Aloj G, Kattamis A, Ceci A et al. Iron chelation therapy in thalassemia major: a systematic review with meta-analyses of 1520 patients included on randomized clinical trials. Blood Cells, Molecules, And Diseases, 2011; 47: 166-175.

[44] Morris CR, Vichinsky EP. Pulmonary hypertension in thalassemia. Annals of The New York Academy of Sciences, 2010; 1202: 205-213.

[45] Fikry SI, Saleh SA, Sarkis NN, Mangoud H. Study of serum zinc in relation to nutritional status among thalassemia patients in damanhour medical national institute. The Journal of The Egyptian Public Health Association, 2003; 78: 73-93.

[46] Cao A, Kan YW. The prevention of thalassemia. Cold Spring Harb Perspect Med. 2013; 3(2):1-15.

T.C. SAĞLIK BAKANLIĞI
TÜRKİYE İLAÇ VE TIBBİ CİHAZ KURUMU

DERLEME MAKALESİ

Türk Farmakope Dergisi 2020, 5(3): 57-67
© Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu 2020

GRİP AŞISININ GÜNCEL KALİTE KONTROL GEREKLİLİKLERİ

Mehmet ALKAN[1], İlhan BOZYİĞİT[1], Aysu YURDASİPER[2*], Evren ALĞIN YAPAR[1]

1. T.C. Sağlık Bakanlığı, Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu, Analiz ve Kontrol Laboratuvarları Dairesi Başkanlığı, 06430, Sıhhiye-Ankara.
2. Ege Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı, 35040, Bornova-İzmir.

elmek*: aysuyurdasiper@hotmail.com

Geliş tarihi: 26.08.2020 / Kabul tarihi: 08.09.2020

ÖZET

İnfluenza, üst ve/ veya alt solunum yolunu etkileyen akut bir solunum yolu hastalığıdır. Üç tip (A, B ve C) influenza virüsü tanımlanmış olup, İnfluenza A en ağır seyirli olandır. İnfluenza A virüsleri, bağışıklığın çok az olduğu veya hiç olmadığı yeni, virülan influenza A alt tiplerinin hızla yayılmasıyla karakterize edilen pandemilere de neden olabilmektedir. Grip, ılıman bölgelerde mevsimsel salgınlara ve bazı tropikal bölgelerde yıl boyunca salgınlara neden olmaktadır. Influenza virüsü, öncelikle enfekte kişilerin damlacıkları veya solunum salgılarıyla bulaşır. İnfluenza yıllık küresel görülme oranı yetişkinlerde %5-10 ve çocuklarda %20-30 aralığındadır. Aşılama, influenza virüsü enfeksiyonunun önlenmesi için etkili bir önlemdir. Pandemik potansiyele sahip influenza virüslerine karşı aşıların yanı sıra geniş ölçüde koruyucu ve uzun süreli bağışıklığı sağlayan mevsimsel grip aşılarının geliştirilmesi önemlidir. Aşıların başarılı bir şekilde geliştirilmesi için araştırma ve geliştirme, kalite kontrol, kalite güvence sistemi, yasal düzenlemelere uygun üretim uzun bir süreci kapsar. Bu makalede, grip aşıları ve üretiminde kalite kontrol testlerine güncel bir bakış sunulmaktadır.

Anahtar kelimeler: Grip/İnfluenza, Grip aşısı, Kalite kontrol testleri, Farmakope, DSÖ.

CURRENT QUALITY CONTROL REQUIREMENTS OF INFLUENZA VACCINE

ABSTRACT

Influenza is an acute respiratory illness that affects the upper and/or lower respiratory tract and is caused by influenza virus. Three types of Influenza viruses (A, B and C) are determined and type A causes the most severe infection. Influenza A viruses may also cause pandemics characterized by rapid dissemination of a new, virulent influenza A subtypes to which there is little or no existing immunity. Influenza have been caused seasonal epidemics in temperate regions and year-round epidemics in some tropical regions. Influenza virus is transmitted primarily by droplets or respiratory secretions of infected persons. The annual global prevalence of influenza is in the range 5-10% in adults and 20-30% in children. Vaccination is an effective measure to prevent influenza virus infection. The development of vaccines against influenza viruses with pandemic potential, as well as seasonal influenza vaccines that provide broadly protective and long-term immunity are important. For the successful development of vaccines, research and development, quality control, quality assurance system, production in accordance with legal regulations involves a long process. This review presents an up-to-date overview of influenza vaccines and quality control testing in manufacture.

Keywords: Influenza**,** Influenza vaccine, Quality control tests, Pharmacopoeia, WHO.

GİRİŞ

Grip (influenza) genellikle yıl içerisinde Ekim ayından başlayarak Nisan başına kadar olan dönemde sık görülen oldukça bulaşıcı bir solunum yolu hastalığı olup hastalığın etkenleri olan influenzanın bilinen 4 türü (Tip A, B, C ve D) mevcuttur [1]. İnfluenza türleri yüzey proteinlerine göre daha fazla alt tiplere ayrılmaktadır. Bu proteinler Nöraminidaz (N) ve Hemaglütinin (H) tip A ve B'nin, hemaglütinin-esteraz füzyonu olan ise tip C'nin yapısında bulunmaktadır. Genellikle daha şiddetli tablolar tip A'nın içinde dolaşan baskın alt tiplerden kaynaklanmaktadır (H1/N1) ve (H3/N2) [2]. Senelik, dünya çapında mevsimsel grip prevalansının yetişkinlerde %5-10 arasında ve çocuklarda %20-30 arasında olduğu belirtilmektedir [3]. Tip A ile enfeksiyon, influenza B ve C'den daha ciddi morbiditeye yol açmaktadır. A tipi virüsler, hemaglütinin (HA) veya nöraminidaz (NA) aktivitesine sahip zarf glikoproteinlerine göre ayrıca alt gruplara ayrılır. Birçok RNA genom virüsünün karakteristik özelliklerini taşıyan influenza virüsü, HA ve NA antijenlerinde değişkenliğe yol açan yüksek mutasyon oranlarına ve genetik materyalin kombinasyonu ve yeniden düzenlenmesine maruz kalır [4]. İnfluenza A suşlarının protein yapısında küçük değişiklikler ("antijenik kayma") sık sık meydana gelir ve virüsün immün sistem tarafından tanınmasını engelleyerek tekrarlayan influenza salgınlarına neden olur. İnfluenza tip A HA antijenindeki önemli değişiklikler ("antijenik kayma"), hayvan ve insan alt türleri arasında olduğu gibi farklı influenza A alt türlerinden kaynaklanır ve nadir durumlarda, bu tür antijenik kaymaya uğramış virüsler, büyük bölgesel veya küresel

pandemik salgınlara neden olabilecek türlere neden olabilir. İnfluenza B virüs suşlarında antijenik kayma, A suşlarına göre daha az sıklıkta görülür ve antijenik sürüklenme bilinmemektedir. Antijenik kaymaya ek olarak, influenza virüsleri arasında farklı bir tür varyasyon vardır, bu da virüsün yetiştirildiği farklı konakçı hücrelerde belirli virüs alt popülasyonlarının tercihli büyümesidir. Embriyo yumurtalarında yetişen influenza virüsleri genellikle memeli hücrelerinden izole edilenlerden antijenik ve biyolojik farklılıklar gösterir. Bu tür varyantların hemaglütinin geninin sekans analizi, tipik olarak memeli hücrelerinde büyüyen virüsün, sadece hemaglütinin molekülündeki tek bir amino asidin yer değiştirmesiyle yumurtalarda yetiştirilen aynı kaynaktan gelen virüsten farklı olduğunu göstermiştir [5]. İnfluenza H1N1 ve H3N2 şu anda influenza enfeksiyonuna neden olan baskın virüs alt tipleridir [6]. Toplumda sık görülen influenza virüsleri sürekli değişim göstermekte, grip aşısı içerisinde bir önceki yıl toplumu en çok hastalandırılan virüsleri içeren 3 veya 4 alt tip influenza virüsü aşı içerisine dahil edilerek her yıl yeni aşı hazırlanmaktadır. İnsanlarda hastalık oluşturan influenza virüslerinin neredeyse tamamı influenza A ve influenza B alt tiplerine aittir ve aşılar içerisinde her iki alt tipe ait suşlar yer almaktadır [7]. Klinik olarak hastalığa karşı korunma, esas olarak serum antikorları tarafından sağlanırken, mukozal IgA antikorları enfeksiyona karşı dirence katkıda bulunur. HA, nötralize edici antikorların ana antijenik hedefidir. Bununla birlikte, antijenik kayma ve antijenik değişme nedeniyle, bir suş tarafından indüklenen antikorun koruyucu etkisi, zamanın bir fonksiyonu olarak azalabilir veya kaybolabilir, bu da bireylerin yeni suşlara karşı nispeten veya tamamen korumasız kalmasıyla sonuçlanabilir [8].

İnaktif influenza aşılarının üretimi ve kalite kontrolü için Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tavsiyeleri ilk olarak 1967'de geliştirilmiş ve daha sonra 1978, 1990 ve 2003'te güncellenmiştir. En son güncelleme, memeli hücrelerinin ve adjuvanların üretim için kullanımını, gelişimini, aşı virüsü oluşturmak için reverz genetik uygulamasını ve pandemik planlama seviyelerini içermektedir. İnaktif influenza aşıları yaklaşık 60 yıldır yaygın olarak kullanılmaktadır. Aşılamanın etkililiği koşullara göre değişmiştir, ancak %75-90'lık koruma oranları bildirilmiştir. Koruyucu etkililikteki farklılıklar, yaygın salgın türlerde devam eden antijenik varyasyondan kaynaklanabilir [9]. Bu varyasyon nedeniyle, çoğu viral aşının aksine, inaktive edilmiş influenza virüs aşısının bileşimi sürekli olarak gözden geçirilmelidir. DSÖ, dünyadaki epidemiyolojik durumu yılda iki kez gözden geçirmekte ve gerekirse mevcut durumlara uygun olarak yeni aşı suşları önermektedir. Genel olarak, mevsimsel grip aşıları trivalan olup önümüzdeki sezonda dolaşıma girmesi en muhtemel olan influenza A ve B suşlarının bir karışımını içerir. Bununla birlikte, aday pandemik suşlara karşı monovalan aşılar üretilmiştir. Üretime yönelik olarak uygun yüzey antijenlerinden yüksek verim veren reassortant (yeniden karışıma uğramış) suşların kullanılması yaygın bir uygulamadır [10]. Canlı zayıflatılmış influenza aşılarının üretimi ve kalite kontrolüne yönelik DSÖ tavsiyeleri, doğal enfeksiyonu taklit eden canlı zayıflatılmış virüsler kullanılarak 1978'de formüle edilmiştir. Bu tavsiyeler daha sonra Dünya Sağlık Örgütü Biyolojik Standardizasyon Uzman Komitesi (Expert Committee on Biological Standardization-ECBS) tarafından 2009'da kabul edilmiştir. 1990 yılından beri, influenza aşılarının geliştirilmesine yönelik yeni yaklaşımlar araştırılmaktadır.

Influenza aşı üretimi için, memeli hücre hatlarının gelişiminin artması, adjuvan kullanımında artan deneyim ve aşı virüslerinin üretilmesi için rezerv genetik teknolojilerinin hızlı gelişimi, virüs benzeri partiküllerin (Virus Like Particle-VLP) üretimi ve DNA ve viral vektör bazlı aşıların üretimi şeklinde önemli gelişmeler olmuştur [11,12]. VLP, genomik RNA fragmanları olmayan virionların antijenik belirleyicileridir. Genetik materyalin bulunmaması nedeniyle VLP, insan ve hayvan hücrelerini enfekte edemez ve bu da onları güvenli kılar [13]. İnfluenza VLP çeşitli ekspresyon sistemlerinden elde edilmiştir. NA'nın aynı anda ekspresyonu veya eksojen NA'nın eklenmesi, HA içeren influenza VLP'nin memeli hücrelerinden verimli bir şekilde taşınmasını sağlamak için gereklidir. Bu durum, aktif NA'nın hücre zarının yüzeyindeki siyalik asitleri parçalama kabiliyeti ile ilişkili olduğunu düşündürmektedir [14]. Adenoviral vektörler, çeşitli genetik aşılar için umut vericidir. Adenovirüsler, insan organizmasına mukozal epitel yoluyla etkili bir şekilde nüfuz edebilir, böylece uzun vadeli antijen kalıcılığı ve doğal bağışıklık tepkisinin indüksiyonunu sağlamaktadır [15]. DSÖ bu yeni gelişmeleri yansıtmak ve aşıların kalite kontrollerinin etkin olması için sağlanması gereken protokolleri her yıl güncellemektedir.

DSÖ`nün kurduğu sürveyans ağı ile tüm dünyadaki influenza referans laboratuvarları, yaptıkları identifikasyon testleri ile grip virüslerinden haberdar olmakta ve kayıt altına almaktadır. İnfluenza aşısına ilişkin çalışmalara başlamak için ilk adım bu ağ tarafından toplanan bilgiler ışığında yeni bir influenza virüsünün tespitidir. DSÖ ilk olarak 1981 yılında aşıların ve serumların kontrolü için, biyolojik tıbbi ürünlerin gözetimi, hem imalat hem de ithalatçı ülkeler için düzenleyici prosedürleri, ulusal kontrol laboratuvarının işlevini ve lisans sonrası izlemeyi içerecek şekilde güncellenmiştir. Bu rehber 1994 yılında, düzenleyici otoritelere yönelik tavsiyeleri içerecek şekilde güncellenmiştir [16]. Aşıların karakterizasyonu ve kalite kontrolü için moleküler yöntemlerin kullanımının artmasıyla ECBS, aşıların kalite kontrolü ve üretiminde kullanılan yöntemlerin birbirleri ile uyumlaştırılmasına vurgu yapmıştır. Ulusal Kontrol Laboratuvarlarının görev ve sorumlulukları 1991 yılında tanımlanmış ve 2010 yılında ECBS tarafından kabul edilen düzenleyici otoriteler tarafından aşıların üretimine ilişkin yönergeler güncellenmiştir.

Dünyada Kuzey ve Güney yarımküre için en fazla tespit edilen 3-4 suş, aşı suşu (referans suşlar) olarak üreticilere DSÖ tarafından verilmektedir [17]. DSÖ her yıl dünyanın epidemiyolojik durumunu gözden geçirerek, bulguları doğrultusunda ilgili suşları üreticilere önermekte ve üreticiler, DSÖ den aldığı referans suşlarla ana tohum serisi ve çalışma tohum serilerini oluşturarak aşı üretimini gerçekleştirmektedirler [18,19].

İmalat ve kalite kontrol aşamasında belirlenen temel ihtiyaçlardan biri, mevcut küresel aşı tedariki eksikliğini giderecek teknolojilerin desteklenmesidir. Zorluklar arasında şu anda lisanslı ve kullanımda olan aşı hacminin artması ve de daha karmaşık (ve pahalı) test protokolleri gerektiren yeni aşıların varlığı yer almaktadır. Üretim hızını, üretim verimini ve üretimin öngörülebilirliğini artırabilecek kapsayıcı ilkeler, tasarımla kalite (Quality by Design-QbD) yaklaşımı ve proses analitik teknolojisi (Process Analytical Technology-PAT) mekanizmalarındaki iyileştirmelerdir. PAT, üretim

için bir gereklilik haline gelmiştir. PAT, proses gelişimini ve kalitesini artırmaktadır ve maliyetleri büyük ölçüde azaltmaktadır. Bununla birlikte, bu kavram biyo-üretim için hala yenidir ve bu teknolojilerin aşılarda uygulanması için daha fazla geliştirilmesi gerekmektedir. Gelişen teknoloji ile safsızlıkların daha iyi izlenmesi ve aşıların 3 boyutlu olarak incelenmesi sağlanabilir. Böylelikle, antijenin daha iyi karakterize edilmesi mümkün olabilir. Üretim sürecini standartlaştırmak, kallite kontrol testlerini modernize etmek daha kısa döngü sürelerine ve daha hızlı ve daha öngörülebilir aşı üretimine olanak sağlayacaktır [20]. Bu makalede, grip/influenza aşısının temel üretim akışı kapsamında güncel kalite kontrol gereklilikleri hakkında bilgi verilmektedir.

ÜRETİM AKIŞI ve KALİTE KONTROL GEREKLİLİKLERİ

Influenza Aşısı Hazırlık Aşamasındaki Kontroller

Üretici tarafından, DSÖ`den alınan referans suşlarla ana tohum serisi ve çalışma tohum serileri oluşturularak aşağıdaki belirtilen hususlar dikkate alınarak kalite kontrol testleri gerçekleştirilir. İlave olarak DSÖ tarafından üretilen ve standardize edilen referans reaktifler tüm aşı üreticilerine virüs aşısının etkililiğini kontrol etmek amacıyla verilir. Gerekli şartların karşılanması halinde üretime başlanır [21].

Yumurtada aşı üretimi yapılacaksa; 11 günlük spesifik patojen ari (Spesific Pathogen Free-SPF) döllü yumurta ile üretim yapılmalıdır. Üretim ünitesine girecek yumurtaların yıkanması ve dezenfeksiyonu sonrası 35-37°C de inkübasyonu yapılır. İnokülasyonun embriyolu tavuk yumurtalarının allontoik boşluğuna ekim yapılarak ve uygun mikro çevrede inkübasyonu sonrasında, allantoik ve amniyotik sıvılar hasat edilir. Beta laktam antibiyotikleri kullanılmaz.

Hücre kültüründe aşı üretilecekse, kullanılacak hücre hatlarında; adenovirüs, parainfluenza virüsü, respiratuvar sinsitiyal virüs, koronavirüs, rinovirüs, enterovirüs, enterovirus, insan herpesvirüsü tip 4 (Epstein–Barr virüs*ü*), herpes simpleks virüsü, sitomegalovirüs ve mikoplazma bulunmaması gerekir. Şartlar sağlandığında hücre kültürlerinin çoğaltılması işlemine geçilir.

- ✓ Ana tohum serisi ve çalışma tohum serisi sıvı halde saklanacaksa -60 °C altında, liyofilize edilerek saklanacak ise -20°C altında saklanmalıdır.
- ✓ Virüsün genetik yapısında değişiklikler olup olmadığı yapılan pasajlar sonrasında Polimeraz Zincir Reaksiyonu testi (Polymerase Chain Reaction-PCR test) ile kanıtlanması gerekmektedir.
- ✓ Ana tohum serisi ve çalışma tohum serisi üretimi iyi imalat uygulamaları (Good Manufacturing Practices – GMP) koşullarında gerçekleştirilmelidir.
- ✓ Üretim ve saflaştırma işlemi B+ ve A sınıfı havalandırmalı alanlarda yapılmalıdır.

- ✓ Hücre kültüründe üretilen aşılarda poliovirüs, insan immün yetmezlik virüsü (Human Immunodeficiency Virus-HIV), insan adenovirüsü, küçük fare virüsü (Minute Virus of Mice-MVM) ve parainfluenza virüslerin de inaktivasyonunun olabileceği göz önünde bulundurulmalıdır. Kullanılan hücrelerin kontrolü gerekmektedir.

Tablo 1. Influenza aşısı üretim/imalat akışının temel basamakları.

Yumurta/Hücre kültürü	→	Virüs ekimi ve inokülasyon	→
Hasat	→	Yığın (Bulk)	→
Saflaştırma/Pürifikasyon: Santrifüjleme veya Filtrasyon işlemiyle	→	Formülasyon hazırlanması: Safşaltırılmış ara ürün + Hacim arttırıcı + Adjuvan + Stabilizör + Koruyucu	→
Ambalaja dolum	→	Kontroller	→
Etiketleme	→	Nihai ambalaja yerleştirme	Paketleme

Tablo 1`de yer alan influenza aşısı üretim basamaklarından ilk aşama kontroller hücre kültüründe gerçekleştirilir. En az 500 mL hücre süspansiyonuna eşdeğer bir hücre örneği, hücre kültürlerinin kontrolü için ayrılmalıdır. Hücre kültürlerinde;

Hemadsorbsiyon testi: Testlerde kobayların kanı kullanılmakla birlikte bazı ulusal düzenleyici otoritelerin gereklilikleri kapsamında, 0 grubu insan kanı, maymun, tavuk ve diğer kanatlı kanı kullanılarak da yapılabilmektedir.

Süpernatan sıvılarında yapılan testler: 10 mL'den az olmayacak şekilde süpernatan toplanarak yeni bir hücre kültürüne inoküle edilir, 2 hafta 35-37^{O}C`de bekletilir. Daha sonra kontaminasyon yönünden PCR testi ile kontrol edilir.

Tanıma testi: DSÖ`nün WHO TRS 927 Annex 3 dokümanı veya Avrupa Farmakopesi EP 10.1 07/2019:0159 sürümüne göre yapılır [17,18].

Monovalan virüs inaktivasyonu:

- ✓ İnaktivasyon için, formalin (%40 formaldehit) veya ß-propiolakton (2-oksetan) kullanıldığında hacme göre derişim %0.1'i geçmemelidir. İnaktivasyon işleminde sıcaklık ve inaktivasyon süresine dikkat edilmelidir.
- ✓ Yumurta kökenli aşılarda avian leukosis virüs, mikoplazma, avian adenovirüslerin de inaktivasyonunun olabileceği göz önünde bulundurulmalıdır.

Saflaştırma ve derişim: Yüksek hızlı santrifüj veya diğer uygun yöntemlerle inaktivasyon işleminden önce veya sonra yapılır.

Monovalan virüs havuzunun kontrolü – Ara ürün (Bulk) kontrolleri

Yığın/ara ürün kontrolüne yönelik DSÖ`nün WHO TRS 927 Annex 3 dokümanı veya Avrupa Farmakopesi EP 10.1 07/2019:0159 sürümündeki testler yapılmaktadır. Tablo 2`de monovalan virüs havuzunun kontrolüne ilişkin testlere yer verilmektedir.

Tablo 2. Monovalan virüs havuzunun kontrolüne ilişkin testler [17,18].

WHO TRS 927 Annex 3	EP 10.1 07/2019:0159
İnaktivasyonun etkinliği	İnaktivasyonun etkinliği
Tanıma	-
Hemaglütinin miktarı	Hemaglütinin miktarı
Nöraminidaz varlığı	Nöraminidaz varlığı
Virüs bozulması (bölünmüş aşılar)	-
Yüzey antijenleri (alt birim aşılar)	-
Yabancı ajan (Yumurta kaynaklı, hücre kaynaklı)	-
Artık DNA (hücre kaynaklı)	-
Üretimde kullanılan kimyasalların testleri	-
-	Sterilite

Nihai yığın ürün (Final Bulk) için kalite kontrol testleri

Nihai yığın ürün, kimyasal veya biyolojik işleme ve saflaştırmadan sonra, dağıtım ve son doldurmadan önce derişim, kurutma ve kaplara doldurmaya hazır olan nihai ürün olarak tanımlanır. Bitmiş/nihai ürün kalite kontrolüne yönelik DSÖ`nün WHO TRS 927 Annex 3 dokümanı veya Avrupa Farmakopesi EP 10.1 07/2019:0159 sürümündeki testler yapılmaktadır. Bitmiş yığın ürün kalite kontrol testlerine aşağıda Tablo 3`te yer verilmektedir.

Tablo 3. Bitmiş yığın ürün kalite kontrol testleri [17,18].

WHO TRS 927 Annex 3	EP 10.1 07/2019:0159
Hemaglütinin antijen miktar tayini	Sterilite
Sterilite	Antimikrobiyal Koruyucu
Total Protein	-
Ovalbümin	-
Adjuvan miktar tayini	-

Dolum

Tek doz (kullanıma hazır enjektör, ampul, vial) veya çoklu doz (ampul, vial vb.) olarak dolum yapılabilir.

Bitmiş ürün seri (Final lot) kalite kontrol testleri

Bitmiş/nihai ürünün seri (final lot) kalite kontrol testleri DSÖ`nün WHO TRS 927 Annex 3 dokümanı veya Avrupa Farmakopesi EP 10.1 07/2019:0159 sürümüne göre yapılmakta olup aşağıda Tablo 4`te bu testlere yer verilmektedir.

Tablo 4. Bitmiş ürün kalite kontrol testleri [17,18, 22].

WHO TRS 927 Annex 3	EP 10.1 07/2019:0159
Tanıma	Tanıma
Sterilite	Sterilite
Hemaglütinin antijen miktar tayini	Hemaglütinin antijen miktar tayini
Abnormal Toksisite	-
Endotoksin	Endotoksin
Fiziksel görünüş	Fiziksel görünüş
-	Serbest Formaldehit
-	Bulaşıcı Virüs Kalıntısı
-	Antimikrobiyal Koruyucu
-	Ovalbumin
-	Total Protein

SONUÇ

İnfluenza virüsleri, influenzanın kontrolünü zorlaştıran sürekli evrimsel değişime uğramakta ve bundan dolayı dünyada kayda değer bir morbidite ve mortalite nedeni olmaktadır. Günümüzde mevcut olan birincil grip profilaksi yolu aşıdır. İnfluenza aşılarının geliştirilmesinde yeni adjuvan ve bazı aşıların lisanslanmasıyla birlikte pek çok ilerleme kaydedilmiştir. Aşılamadan sürekli olumlu sonuçlar elde etmek için DSÖ tarafından, ham maddelerin kontrolü ve izlenmesi, üretim süreçlerinin yeterliliği, kalite kontrol yöntemleri ve spesifikasyonlarının uygunluğu, bitmiş ürünlerin kontrolüne bağlı olan kalite güvence önlemlerinin gerekliliği vurgulanmıştır. Kalite kontrol testleri ile aşıların güvenliliği, etkililiği, tekrarlanabilirliği ve tutarlı şekilde yeniden üretilebilirliği sağlanmaktadır.

KAYNAKÇA

[1] CDC. Seasonal Influenza (Flu) About Flu-How Flu Spreads 2019. Available from: https://www.cdc.gov/flu/about/disease/spread.htm.

[2] Centers for Disease Control and Prevention. 2012. Severe influenza among children and young adults with neurologic and neurodevelopmental conditions-Ohio, 2011. MMWR Morb Mortal Wkly Rep, 60, 1729-33.

[3] Cortes-Penfield, N. 2014. Mandatory influenza vaccination for health care workers as the new standard of care: a matter of patient safety and nonmaleficent practice. Am J Public

Health. 104(11), 2060-5.

[4] Krammer F, Smith GJD, Fouchier RAM et al. Influenza. Nat Rev Dis Primers. 2018;4(3):1-21. https://doi.org/10.1038/s41572-018-0002-y.

[5] Recommendations for the production and control of influenza vaccine (inactivated), World Health Organization WHO Technical Report Series, No. 927, 2005, 25.08.2020 tarihinde https://www.who.int/biologicals/publications/trs/areas/vaccines/influenza/ANNEX%203%20InfluenzaP99-134.pdf?ua=1 asdresinden erişildi.

[6] Smith NM, Breese JS, Shay DK, Uyeki TM, Cox NJ, Strikas RA. Centers for Disease Control and Prevention. Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP), MMWR Recomm Rep, 2006, 55(RR10), 1-42.

[7] Grip (İnfluenza) Hakkında. T.C. Sağlık Bakanlığı, Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü, 25.08.2020 tarihinde, https://hsgm.saglik.gov.tr/tr/haberler/grip-influenza-hakk%C4%B1nda.html adresinden erişildi.

[8] Punpanich W, Chotpitayasunondh T. A review on the clinical spectrum and natural history of human influenza, International Journal of Infectious Diseases, 2012;16 (10):e714-e723.

[9] Houser K, Subbarao K. Influenza vaccines: challenges and solutions. Cell Host Microbe. 2015;17(3):295-300. doi:10.1016/j.chom.2015.02.012.

[10] Yenen O. Pandemik influenza aşıları, İstanbul Tıp Fakültesi Dergisi, 2012, 49-64.

[11] Hudayberdiyev H, Öner F. Rekombinant dna teknolojisi ile üretilen peptid-protein ilaçlar, FABAD J. Pharm. Sci., 1997;22:27-38.

[12] Şalva E, Turan SÖ, Ekentok C, Akbuğa J. Generation of stable cell line by using chitosan as gene delivery system. Cytotechnology. 2016;68(4):1033-1038. doi:10.1007/s10616-015-9859-8.

[13] Şereflioğlu Ş, Yapıcı E, Tekarslan Şahin ŞH, Erginer Y, Üstündağ CB. Targeted drug delivery and vaccinology approaches with virus-like particles (VLPs) for cancer. Istanbul Journal Of Pharmacy, 2017;7:41-46.

[14] Park YC, Song JM. Preparation and immunogenicity of influenza virus-like particles using nitrocellulose membrane filtration. Clin Exp Vaccine Res. 2017;6(1):61-66. doi:10.7774/cevr.2017.6.1.61.

[15] Rollier CS, Spencer AJ, Sogaard KC et al. Modification of adenovirus vaccine vector-induced immune responses by expression of a signalling molecule. Sci Rep 2020;10, 5716. https://doi.org/10.1038/s41598-020-61730-8.

[16] Regulation and quality control of vaccines. World Health Organization, 2017, 25.08.2020

tarihinde https://www.who.int/biologicals/vaccines/regulation_and_quality_control_vaccines/en/ adresinden erişildi.

[17] WHO TRS 927 Annex III Recommendation for the production and control of influenza vaccine (inactivated).

[18] European Pharmacopoeia (Ph. Eur.) 10th Edition, EP 10.1 07/2019:0159.

[19] Gerdil C. The annual production cycle for influenza vaccine. Vaccine 2003;21:1776-1179.

[20] Innovation Partnership for a Roadmap on Vaccines in Europe (IPROVE), Vaccine manufacturing and quality control, 25.08.2020 tarihinde http://iprove-roadmap.eu/wp-content/uploads/2016/03/Vaccine-manufacturing-and-quality-control.pdf adresinden erişildi.

[21] Guideline on Influenza Vaccines–Quality Module, 20 July 2017 EMA/CHMP/BWP/310834/2012 Rev.1, 25.08.2020 tarihinde https://www.ema.europa.eu/en/influenza-vaccines quality-module adresinden erişildi.

[22] EU Official Control Authority Batch Release, Human Vaccines, Guideline for Influenza Vaccine, 01/05/2013.

T.C. SAĞLIK BAKANLIĞI
TÜRKİYE İLAÇ VE TIBBİ CİHAZ KURUMU

DERLEME MAKALESİ

Türk Farmakope Dergisi 2020, 5(3): 68-79
© Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu 2020

BİYOFARMASÖTİK ÜRÜNLERİN ETKİLİLİK VE GÜVENLİLİĞİNİN KONTROLÜNDE KULLANILAN *İN VİVO* TESTLER

Mehmet Emre ÖZDEMİRHAN[1], Hakan BÜZKAYA[1], İlhan BOZYİĞİT[1], Aysu YURDASİPER[2], Sümeyra TUNA YILDIRIM[3], Evren ALĞIN YAPAR[1*]

1. T.C. Sağlık Bakanlığı, Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu, Analiz ve Kontrol Laboratuvarları Dairesi Başkanlığı, 06430, Sıhhiye-Ankara.

   elmek*: evren.yapar@yahoo.com

2. Ege Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Teknoloji ABD, 35040, Bornova-İzmir.

3. Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Analitik Kimya ABD, 24100, Yalnızbağ-Erzincan.

Geliş tarihi: 29.08.2020 / Kabul tarihi: 09.09.2020

ÖZET

Biyofarmasötik ürünlerin bitmiş ürün raf ömrü spesifikasyonları arasında yer alan etkililik ve güvenlilik parametreleri için kalite kontrol testleri gereklidir. Bu testler arasında hayvan testleri esas olarak ürünlerin potensini ve toksisitesini değerlendirmek için kullanılır. Ürünlerin etkililiği için Nötralizasyon Testi (Etkili Doz 50 –ED_{50}, Koruyucu Doz 50–PD_{50}) ve *in vivo* tarama zorlama testleri kullanılmaktadır. Güvenlilik için akut toksisite testi, pirojen testi, *in vivo* duyarlılaşma, *in vivo* irritasyon, genotoksisite, *in vivo* biyouyumluluk, kronik toksisite testi, hemouyumluluk gibi testler kullanılır. Bu testler esas olarak farmakopeler, Ekonomik İşbirliği ve Kalkınma Örgütü kılavuzları ve Uluslararası Standardizasyon Örgütü standartlarında yer almaktadır. Biyofarmasötik ürünün etkililiği, potensi ve toksisitesi bu testler ile değerlendirilir ve karşılaştırılır. Bu çalışmada, biyofarmasötik ürünlerin bitmiş ürün raf ömrü spesifikasyonları yönünden potens ve toksisitesinin değerlendirilmesi için uluslararası kabul gören farmakopelerde, Ekonomik İşbirliği ve Kalkınma Örgütü kılavuzları ve Uluslararası Standardizasyon Örgütü standartlarında yer alan *in vivo* testlere değinilmiştir.

Anahtar kelimeler: Farmakope, Standart, *İn vivo* test, Etkililik, Güvenlilik.

IN VIVO TESTS USED FOR CONTROL OF THE EFFICACY AND SAFETY OF BIOPHARMACEUTICAL PRODUCTS

ABSTRACT

Quality control tests are required for efficacy and safety parameters, which are among the specifications of the finished product shelf life of biopharmaceutical products. Among these tests, animal tests are mainly used to evaluate the potency and toxicity of the products. Neutralization Test (Effective Dose 50 - ED50, Protective Dose 50 - PD50) and *in vivo* challenge tests are used for the efficacy of the products. For product safety, tests such as acute toxicity test, pyrogen test, *in vivo* sensitization, *in vivo* irritation, genotoxicity, *in vivo* biocompatibility, chronic toxicity test, hemocompatibility are used. These tests are mainly included in the pharmacopoeia, guidelines of Organisation For Economic Co-Operation and Development and standards of International Organization for Standardization. The efficacy, potency and toxicity of the biopharmaceutical product are evaluated and compared with these tests. In this study, *in vivo* tests in the internationally accepted pharmacopoeias, guidelines of Organisation For Economic Co-Operation and Development and standards of International Organization for Standardization to evaluate the potency and toxicity of biopharmaceutical products in terms of finished product shelf life specifications are presented.

Keywords: Pharmacopoeia, Standards, *In vivo* test, Efficacy, Safety.

GİRİŞ

Farmakopeler, ulusal veya bölgesel bir otorite tarafından, o ülkede veya bölgede kullanılan ilaçlar, aşılar, kan ürünleri, biyolojik ve biyoteknolojik ürünlerde standartlar ve kalite özelliklerini belirlemek için hazırlanan bilimsel ve yasal dayanaklı bağlayıcı referans kitaplardır [1]. Monograflar; kimyasal/biyolojik/biyoteknolojik aktif ve yardımcı maddeleri, sentetik ve doğal bileşimli ilaçları, bitmiş ürünler veya tıbbi ürünlerin preparatlarını, bunların tanımı, içeriği, morfolojik (görünüm), fizikokimyasal (çözünürlük, ergime ve kaynama noktası gibi) ve biyolojik (biyolojik aktivite ve tanım) özelliklerini, tanıma-teşhis analizlerini, ambalajlama ve saklamayı tanımlayan farmakope bölümleridir. Farmasötik analiz, bilimsel sonuçların günlük pratiğe farmakolojik olarak uygulanması yoluyla, ilaçların kalitesini, güvenliliğini ve etkililiğini doğrudan etkileyebileceği bir platformdur [2]. Günümüzde farmakopeler, temel olarak, çeşitli analitik bilim araçlarıyla ürün kalitesinin güvence altına alınmasına odaklanmaktadır. Seçilen farmasötik ürünler, yardımcı maddeler ve dozaj şekilleri için kalite spesifikasyonlarında karşılıklı işbirlikleri ile geniş bir küresel uyumun sağlanması amaçlanmaktadır [3].

Biyolojik ürünlerin potensini değerlendirmek için geleneksel yaklaşım, ürünün belirli bir sonucu etkileme kabiliyetiyle ilgili aktivitesini ölçen bir kantitatif biyolojik test geliştirmektir. Biyoanalizler, bir ürünün aktif bileşen (ler) ini canlı bir biyolojik sistem içinde değerlendirerek bir etki ölçüsü sağlayabilir. Biyoanalizler*, in vivo* hayvan çalışmalarını, *in vitro* organ, doku veya hücre kültürü sistemlerini veya bunların herhangi bir kombinasyonunu içerebilir [4]. Referans ölçüm ve biyolojik aktivite arasındaki korelasyon, preklinik/kavram verilerinin doğrulanması için, *in vivo* veriler veya *in vitro* hücresel veya biyokimyasal verilerle karşılaştırma yapmak üzere çeşitli yaklaşımlar kullanılarak sağlanabilir. *İn vivo* çalışmalar, ilaç geliştirme çalışmaları için büyük önem taşır. Bir ilacın, *in vitro* gözlemlenemeyen aksi tesirleri, yan etkileri ve ilaç-ilaç etkileşimleri gibi fizyolojik ve biyokimyasal süreçler dahil olmak üzere özelliklerini değerlendirme yeteneği sağlar. *İn vivo* çalışmaları çevreleyen birçok zorluğun üstesinden, ilacın etkileyeceği insan biyolojisini en iyi şekilde taklit eden bir hayvan modelinin seçilmesi önemlidir. Biyofarmasötiklerin kullanıma sunulmasının öncesinde üretim ve kalite kontrolü için *in vivo* testler yapılmaktadır. Bir biyofarmasötik üründe beklenen etkililiğin, güvenliliğinin gösterilmesi bu testlerin yürütülmesi ile sağlanmaktadır. ED50'ye dayanan referans preparat kullanımı ile çoklu dilüsyon testi tasarım deneyi, 1930'lar ile 1950'ler arasında tanıtılmış ve daha sonra, *in vivo* kalite kontrol testleri 1950-1970'lerde geliştirilmiştir. Fareler ve kobayların kullanıldığı *in vivo* testler, bir dizi ilgili virüsün izolasyonu ve amplifikasyonu için denenmiş yöntemlere dayanmaktadır ve potansiyel olarak, diğer metotlar kullanılarak tespit edilemeyen virüsleri tespit edebilen bir "tümünü yakalama" yöntemidir [5]. Küçük laboratuvar hayvanları (ör., fareler, sıçanlar ve kobaylar)'nın antikor tepkilerinin ölçümü için toksin/virüs/bakteri ile mücadele veya bağışıklık serumunun titrasyonunu içeren *in vivo* yöntemler belirlenmiştir [6].

Bir *in vivo* potens deneyi, aktif bileşenin biyolojik aktivitesini doğrulamak için yararlıdır. Hücre bazlı immünoterapi ürünleri için ilgili bir biyolojik *in vivo* potens analizinin geliştirilmesi, insan ve hayvanlar arasındaki doğal immünolojik farklılıklardan dolayı ilgili bir hayvan modelinin olmaması nedeniyle engellenebilir veya *in vivo* potens testinin gerçekleştirilmesi uzun süre alabilir. İlgili hayvan modellerinin kullanımı, rutin olarak gerçekleştirilen testler için uygulanabilirliği açısından araştırılması gerekmektedir. Ayrıca, bir proses değişikliğinin veya tıbbi ürünün kalitesini etkileyebilecek herhangi bir değişikliğin uygulanmasından sonra, ürünün karakterizasyonunun belirlenmesinde seçilen hayvan modeli yararlı olabilir [7]. *İn vivo* çalışmalar planlanırken hayvan modeli geliştirmek için gerekli kritik adımlardan biri, patojenlerin konakçı hücrelere bağlanmasında önemli rol oynayan moleküllerin tanımlanmasıdır. Örneğin, insan ana doku uygunluk antijenleri için transgenik olan hayvanlar, insan antijenlerini bu hayvanların bağışıklık sistemine sunmak için kullanılabilir. CD46 veya CD66 gibi insan hedef reseptörlerini eksprese eden transgenik fareler genetik yöntemler kullanılarak geliştirilmiş ve kızamık virüsü veya *Neisseria gonorrhoeae* enfeksiyonları için kullanılmıştır [8]. Ek olarak, immünolojik fonksiyonları tutan insan dokusunun farelere nakledildiği "insanlaştırılmış bağışıklık yetersizliği olan fareler" kullanılabilir. İnsan göbek kordon kanı CD34 pozitif hücreleri ile nakledilen farelerde, insan bağışıklık fonksiyonları yeniden yapılandırılabilir ve HIV enfeksiyonları varlığında incelenebilir [9]. Ayrıca, bağışıklığı zayıflamış

hayvanlar (örneğin atimik fareler), potens ölçümü olarak aktarılan insan T hücrelerinin fonksiyonel cevabını belirlemek için kullanılabilir.

Hayvan modelinin temel kısıtlamaları, prosedürün pahalı ve zaman alıcı olmasıdır. Bariyer sistemleri ve havalandırma ekipmanları gibi özel barınma koşulları nedeniyle hayvanların bakım maliyetleri artmaktadır. Biyofarmasötiklerin üretiminde kullanılan tekniklerde standardizasyonun sağlanması ve GMP uygulamalarının benimsenmesi kullanılan deneme hayvanı sayılarında önemli bir azalmaya neden olmuştur. Hayvanların sağlık durumu, mikrobiyolojik durumu, teknisyenlerin becerileri, gıda kalitesi ve hayvan tesisinin genel koşulları başta olmak üzere birçok faktör günümüzde optimize edilmiştir [10]. Genellikle kalite kontrol ve izleme çizelgesi oluşturmak için 15-20 test sonucu hazır bulundurulmalıdır. Bu nedenle, hızlı ve güvenilir yöntemlerin varlığı, *in vivo* güvenlilik testleri için *in vitro* alternatif testlerin oluşturulması biyofarmasötiklerin kalite kontrol çalışmalarını hızlandırmaktadır. Bu çalışmada, biyofarmasötik ürünlerin bitmiş ürün raf ömrü spesifikasyonları yönünden potens ve toksisitesinin değerlendirilmesi için uluslararası kabul gören Avrupa Farmakopesi, Japon Farmakopesi ve Amerikan Farmakopesi ile Avrupa Farmakopesi uyumlu Türk Farmakopesi`nde, Ekonomik İşbirliği ve Kalkınma Örgütü-EİKÖ (Organisation For Economic Co-Operation and Development-OECD) kılavuzlarında ve Uluslararası Standardizasyon Örgütü-USÖ (International Organization for Standardization-ISO) standartlarında yer alan *in vivo* testlere/yöntemlere değinilmektedir.

İn vivo Testler

Avrupa Farmakopesi, Japon Farmakopesi ve Amerikan Farmakopesi'ndeki bazı *in vivo* testlerin karşılaştırmaları Tablo 1'de sunulmuştur.

Tablo 1. Avrupa Farmakopesi, Japon Farmakopesi ve Amerikan Farmakopesi'ndeki *in vivo* testlerin karşılaştırılmaları [11-15].

	Avrupa Farmakopesi	**Japon Farmakopesi**	**Amerikan Farmakopesi**
Duyarlılık ve İritasyon Testi			Biyolojik Reaktivite Testi-Magnusson & Kligman Kobay Maksimizasyon Testi (GPMT)
	Sodyum dodesil sülfat %10 İritasyon indüksiyonu.	Sodyum dodesil sülfat %10 İritasyon indüksiyonu.	Duyarlılık testi ödem ve kızarıklık iritasyonu değerlendirmesini içerir. Sodyum dodesil sülfat %10 İritasyon indüksiyonu.
İmplantasyon Testi			Biyolojik Reaktivite Testi, *İn Vivo* ⟨88⟩

Zayıflatılmış BCG Aşısı Virülan Mikobakteri Analizi ve Değerlendirmesi

Avrupa Farmakopesi

BCG aşısı, dondurularak-kurutulmuş (TFA-01/2017:80008)

Aynı cinsiyetten altı kobaya, 2.5 mg/mL aşıdan, sağ bacak kasına 0.5 mL sol bacak kasına 0.5 mL (toplam 1 mL) kas içi enjeksiyonu tavsiye edilir. 6 haftalık bir süre boyunca gözlemlenir. Özellikle popliteal ve inguinal lenf düğümleri, karaciğer, dalak, pankreas ve akciğerlerde ve ayrıca enjeksiyon bölgesinde tüberküloz enfeksiyonlarının kanıtlarının ölüm sonrası incelenmesi için tüm hayvanların otopsileri yapılır [11,14].

Japon Farmakopesi

Biyolojik Ürünler İçin Asgari Gereksinimler

Test numunesi, 2.5 mg/mL bakteri içeriğinin eldesi için serum fizyolojik içinde seyreltilir. Bu seyrelti, testten bir hafta önce 300-400 g ağırlığında ve negatif tüberküloz kanıtı gösteren en az 6 kobaya enjekte edilir. En az 3 hayvanın uyluğuna kas içi enjeksiyon ve en az 3 hayvanın karnına deri altı enjeksiyon yoluyla 1 mL'lik seyreltme dozu verilir. Aşılanan hayvanlar en az 6 hafta boyunca gözlemlenir. Daha sonra organ ve lenf düğümlerindeki bulgular otopside incelenir [12].

Amerikan Farmakopesi

Biyolojik Reaktivite Testi, İn *Vivo* ⟨88⟩

Aynı cinsiyetten, her biri 250-300 g ağırlığında olan altı kobaya, 2 mg/mL olarak hazırlanan aşıdan kas içine veya deri altına 4 mg enjekte edilir. 6 haftalık bir süre boyunca gözlemlenir. Özellikle popliteal ve inguinal lenf düğümleri, karaciğer, dalak, pankreas, akciğerlerde ve ayrıca enjeksiyon bölgesinde tüberküloz enfeksiyonunun ölüm sonrası kanıtlarının incelenmesi için tüm hayvanlara otopsi yapılır [13].

Pirojen Testi

Avrupa Farmakopesi

Test başlangıcında başlangıç ve maksimum sıcaklıklar belirlenir. Her tavşanın "başlangıç sıcaklığı", incelenecek ürünün enjeksiyonundan hemen önce toplam 40 dakika süresinde 30 dakikalık bir aralıkta o tavşan için kaydedilen iki sıcaklık okumasının ortalamasıdır. Her tavşanın "maksimum sıcaklığı", enjeksiyondan sonraki 3 saat içinde o tavşan için kaydedilen en yüksek sıcaklıktır.

Her tavşanın maksimum sıcaklığı ile başlangıç sıcaklığı arasındaki fark, cevap olarak değerlendirilir. Bu fark negatif olduğunda, sonuç sıfır cevabı olarak sayılır. İlk sıcaklığın belirlenmesinde art arda iki okuma arasında 0.2 °C'den daha büyük bir sıcaklık değişimi gösteren tavşanlar testten çıkarılır. Herhangi bir testte, sadece birbirinden 1 °C'den fazla farklılık göstermeyen başlangıç sıcaklıklarına sahip tavşanlar kullanılır. Başlangıç sıcaklığı 39.8 °C'den yüksek veya 38.0 °C'den düşük olan tüm tavşanlar testten çıkarılır. İncelenecek ürünün enjeksiyonundan en az 90 dakika önce başlayarak ve enjeksiyondan 3 saat sonra devam ederek her tavşanın sıcaklığı 30 dakikadan fazla olmayan aralıklarla belirtilir. Ana test ilk olarak 3 tavşanlı bir grup üzerinde uygulandıktan sonra, elde edilen sonuçlara göre eğer gerekli ise, 3 tavşan içeren daha fazla grupta, toplamda 4 gruba kadar, test tekrar edilir. Eğer 1. grubun toplam yanıtı Tablo 2'nin 2. kolonunda verilen değeri aşmaz ise ürün testi geçer. Eğer toplam yanıt tablonun 2. kolonunda verilen değeri aşar fakat 3. kolonda verilen değeri aşmaz ise, test yukarıda belirtildiği gibi tekrar edilir. Eğer toplam yanıt tablonun 3. kolonunda verilen değeri aşarsa ürün testi geçmez [11,14].

Tablo 2. Tavşanlarda vücut sıcaklık değerleri [11,14].

Tavşan sayısı	Eğer toplam yanıt aşmaz ise ürün testi geçer	Eğer toplam yanıt aşar ise ürün testi geçmez
3	1.15 °C	2.65 °C
6	2.80 °C	4.30 °C
9	4.45 °C	5.95 °C
12	6.60 °C	6.60 °C

Pirojenite (TFA-01/2017:20143)

Pirojen testinde kullanılan tavşanlardan ortalama sıcaklık artışında 1.2 °C'yi aşanlar kalıcı olarak hariç tutulur [11,14].

Japon Farmakopesi

Test üç tavşanlık bir grup üzerinde gerçekleştirilir. İki veya üç tavşan, ilgili kontrol sıcaklığının 0.6 °C veya üzerinde bir artış gösterirse, test pozitif olarak kabul edilmelidir. Yalnızca bir hayvan 0.6 °C veya üzerinde bir sıcaklık artışı gösteriyorsa veya üç hayvanın sıcaklık artışları toplamı 1.4 °C'yi aşarsa, test diğer beş tavşanlık bir grupta tekrarlanır. Beş tavşanın ikisi veya daha fazlası 0.6 °C veya daha yüksek bir sıcaklık artışı gösteriyorsa test pozitif kabul edilmelidir. Pirojen testi pozitif olduğunda, numunenin reddedildiği kabul edilir [12].

Amerikan Farmakopesi

Herhangi bir sıcaklık düşmesi sıfır artış olarak kabul edilir. Hiçbir tavşan, ilgili kontrol sıcaklığının 0.5 °C veya üzerinde sıcaklık artışı göstermezse, ürün pirojenlerin yokluğuna yönelik gereksinimleri karşılar. Herhangi bir tavşan 0.5 °C veya daha yüksek bir sıcaklık artışı gösterirse, diğer beş tavşan kullanarak teste devam edilir. Sekiz tavşanın üçünden fazlası, 0.5 °C veya üzerinde sıcaklık artışı göstermezse ve sekiz tavşanın en yüksek sıcaklık artışı toplamı 3.3 °C'yi aşmaz ise, incelenen materyal pirojenlerin yokluğuna yönelik gereksinimlerini karşılamaktadır [13].

Ekonomik İşbirliği ve Kalkınma Örgütü Kılavuzları

Kimyasalların insan sağlığı ve çevre üzerindeki potansiyel etkilerini değerlendirmek için Ekonomik İşbirliği ve Kalkınma Örgütü kılavuzları, kullanılmaktadır. Kılavuz beş bölüme ayrılmaktadır ve bu bölümler; Bölüm 1: Fiziksel-Kimyasal özellikler; Bölüm 2: Biyotik Sistemler Üzerindeki Etkileri; Bölüm 3: Çevresel Zarar ve Davranış; Bölüm 4: Sağlık Etkileri ve Bölüm 5: Diğer Test Yönergeleridir [16].

Kimyasalların Test Edilmesi için EİKÖ Yönergeleri, kimyasalların potansiyel tehlikelerini tanımlamak ve karakterize etmek için hükümet, endüstri ve bağımsız laboratuvarlar tarafından kullanılan en uygun uluslararası kabul görmüş test yöntemlerinin yaklaşık 150 yönergeden oluşan bir koleksiyondur. Profesyoneller için, öncelikle düzenleyici güvenlilik testi ve müteakip kimyasal ve kimyasal ürün bildirimi, kimyasal kayıt ve kimyasal değerlendirmede kullanılan bir dizi araçtır. Ayrıca yeni kimyasalların ve ürünlerin geliştirilmesi sırasında ve toksikoloji araştırmalarında aday kimyasalların seçimi ve sıralaması için de kullanılabilirler [17]. Bu kılavuz ilkeleri, üye ülkelerin yasal ihtiyaçlarını karşılayacak en son teknoloji bilim ve tekniklerini yansıttıklarından emin olmak

için sürekli olarak genişletilmekte ve güncellenmektedir. Kılavuz ilkeler, düzenleyici kurumlar, akademi, endüstri, çevre ve hayvan refahı örgütlerinin uzmanlarının yardımıyla hazırlanmıştır. EİKÖ Test Kılavuzları, EİKÖ Verilerin Karşılıklı Kabulü (MAD) sistemi tarafından kapsanmaktadır. Bu sistem kapsamında, EİKÖ Test Yönergeleri ve EİKÖ İyi Laboratuvar Uygulamaları İlkeleri uyarınca üretilen kimyasalların güvenliliği ile ilgili laboratuvar test sonuçları, tüm EİKÖ ülkelerinde ve bağlı ülkelerde güvenlilik değerlendirmesi ve ilgili diğer kullanımlar için kabul edilmektedir. Tablo 3'te EİKÖ bölüm 4: Sağlık etkileri ile ilgili güncel bilgilere yer verilmiştir.

Tablo 3. EİKÖ sağlık etkileri bilgisi [16,17].

No.	Adı	Orijinal Kabulü	Güncelleme Sayısı	Güncelleme Tarihi	En Son Güncelleme
401	Akut oral toksisite	12 Mayıs 1981	1	24 Şubat 1987	17 Aralık 2001
402	Akut dermal toksisite	12 Mayıs 1981	2	24 Şubat 1987	9 Ekim 2017
403	Akut inhalasyon toksisite	12 Mayıs 1981	1		7 Eylül 2009
404	Akut dermal tahriş / korozyon	12 Mayıs 1981	3	17 Temmuz 1992 24 Nisan 2002	28 Temmuz 2015
405	Akut göz tahriş / korozyon	12 Mayıs 1981 (2017'de düzeltilmiştir)	4	2 Ekim 2012 24 Nisan 2002 24 Şubat 1987	20 Haziran 2020
406	Cilt hassasiyeti	12 Mayıs 1981	1		17 Temmuz 1992
407	Kemirgenlerde tekrarlanan 28 günlük doz oral toksisite çalışması	12 Mayıs 1981	2	27 Temmuz 1995	3 Eylül 2008
408	Kemirgenlerde tekrarlanan 90 günlük doz oral toksisite çalışması	12 Mayıs 1981	3	21 Eylül 1998 25 Haziran 2018	25 Eylül 2018
409	Kemirgen olmayanlarda tekrarlanan 90 günlük doz oral toksisite çalışması	12 Mayıs 1981	1		21 Eylül 1998
410	Tekrarlanan dermal toksisite: 90 Gün	12 Mayıs 1981	0		---
411	Subkronik dermal toksisite: 90 günlük çalışma	12 Mayıs 1981	0		---
412	Subakut soluma toksisitesi: 28 günlük çalışma	12 Mayıs 1981	3	7 Eylül 2009 9 Ekim 2017	25 Haziran 2018
413	Subkronik soluma toksisitesi: 90 günlük çalışma	12 Mayıs 1981	3	7 Eylül 2009 9 Ekim 2017	25 Haziran 2018

Tablo 3. EİKÖ sağlık etkileri bilgisi [16,17] (Devamı).

414	Prenatal gelişimsel toksisite çalışması	12 Mayıs 1981	2	22 Ocak 2001	25 Haziran 2018
415	Bir nesil üreme toksisite çalışması	26 Mayıs 1983	0		Silme tarihi: 9 Ekim 2017 (9 Nisan 2019'dan itibaren geçerli)
416	İki nesil üreme toksisite çalışması	26 Mayıs 1983	1		22 Ocak 2001
417	Toksikokinetik	4 Nisan 1984	1		22 Temmuz 2010
418	Akut maruz bırakıldıktan sonra organofosfor maddelerin gecikmiş nörotoksisitesi	4 Nisan 1984	1		27 Temmuz 1995
419	Organofosfor maddelerinin gecikmiş nörotoksisitesi: 29 günlük tekrarlanan doz çalışması	4 Nisan 1984	1		27 Temmuz 1995
420	Akut oral toksisite - sabit doz prosedür	17 Temmuz 1992	1		17 Aralık 2001
421	Üreme / Gelişimsel toksisite tarama testi	27 Temmuz 1995	2	28 Temmuz 2015	29 Temmuz 2016
422	Üreme ile kombine tekrarlanan doz toksisite çalışması/gelişimsel toksisite tarama testi	22 Mart 1996	2	28 Temmuz 2015	29 Temmuz 2016
423	Akut oral toksisite - akut toksik sınıf yöntemi	22 Mart 1996	1		17 Aralık 2001
424	Kemirgenlerde nörotoksisite çalışması	21 Temmuz 1997	0		---
425	Akut oral toksisite: Yukarı-ve-Aşağı Prosedürü	21 Eylül 1998 (2008' de düzeltilmiştir)	2	17 Aralık 2001	23 Mart 2006
426	Gelişimsel nörotoksisite çalışması	16 Ekim 2007	0		---
427	Deri absorpsiyonu: *İn vivo* yöntem	13 Nisan 2004			---
429	Deri hassasiyeti: Lokal lenf düğümü testi	24 Nisan 2002	1		22 Temmuz 2010
433	Akut soluma toksisite testi, sabit konsantrasyon prosedürü	9 Ekim 2017	1		25 Haziran 2018
436	Akut soluma toksisitesi - Akut toksik sınıf metodu	7 Eylül 2009	0		---

Tablo 3. EİKÖ sağlık etkileri bilgisi [16,17] (Devamı).

440	Kemirgenlerde uterotropik tayin: Östrojenik özellikler için kısa dönemli bir tarama testi	16 Ekim 2007	0		---
451	Karsinojenik çalışmalar	12 Mayıs 1981	2	7 Eylül 2009	25 Haziran 2018
452	Kronik toksisite çalışmaları	12 Mayıs 1981	2	7 Eylül 2009	25 Haziran 2018
453	Kombine kronik toksisite/ kardiyojenik çalışmalar	12 Mayıs 1981	2	7 Eylül 2009	25 Haziran 2018
474	*İn vivo* memeli eritrosit mikronükleus testi	26 Mayıs 1983	2	21 Temmuz 1997	29 Temmuz 2016
475	*İn vivo* memeli kemik iliği kromozom anomali testi	4 Nisan 1984	2	21 Temmuz 1997	29 Temmuz 2016
477	Genetik toksikoloji: Drosophila melanogaster'da cinsiyete bağlı resesif ölümcül test	4 Nisan 1984	0		Silme tarihi: 2 Nisan 2014
478	Genetik toksikoloji: Kemirgen baskın ölümcül test	4 Nisan 1984	1		29 Temmuz 2016
484	Genetik toksikoloji: Fare nokta testi	23 Ekim 1986	0		Silme tarihi: 2 Nisan 2014
485	Genetik toksikoloji: Fare kalıtımsal translokasyon deneyi	23 Ekim 1986	0		---
486	*İn vivo* memeli karaciğer hücreleri ile DNA sentezi (EHD) testi	21 Temmuz 1997	0		---
488	Transgenik kemirgen somatik ve germ hücre gen mutasyon deneyleri	28 Temmuz 2011 (2016'da düzeltil-miştir)	2	26 Temmuz 2013	26 Haziran 2020
489	*İn vivo* memeli alkalin comet testi	22 Eylül 2014	1	-	29 Temmuz 2016

Uluslararası Standardizasyon Örgütü Standartları

Biyofarmasötik ürünlerin etkililik ve güvenliliğinin kontrolünde kullanılan Uluslararası Standardizasyon Örgütü standartlarındaki *in vivo* testler çok kısıtlı olmakla birlikte genellikle kozmetik ve tıbbi cihazları kapsamaktadır. Tablo 4'te bu konu ile ilgili birkaç örnek verilmiştir [18].

Tablo 4. ISO standartlarına göre yapılan test örnekleri [18].

Standart numarası	Adı
ISO 24442:2011 Kozmetik	Güneşten korunma test yöntemleri - Güneş koruyucularda UVA korumanın *in vivo* belirlenmesi
ISO 24444:2019 Kozmetik	Güneşten korunma test yöntemleri - Güneşten korunma faktörünün (SPF) *in vivo* belirlenmesi
ISO 10993-10:2010 Tıbbi Cihazların Biyolojik Değerlendirmesi	Bölüm 10: Tahriş ve deri hassasiyeti testleri
ISO 10993-11:2017 Tıbbi Cihazların Biyolojik Değerlendirmesi	Bölüm 11: Sistemik toksisite testleri

SONUÇ

Avrupa Farmakopesi, Japon Farmakopesi ve Amerikan Farmakopesi'nde sunulan biyofarmasötiklerin ve tıbbi cihazların kalite kontrolü için *in vivo* testlerin karşılaştırılması, söz konusu testler arasında anlamlı bir fark gözlenmediğini göstermiştir. Biyofarmasötik ürünlerin etkililik ve güvenliliği kontrolünde kullanılan EİKÖ dokümanları içerisinde yer alan *in vivo* testlerin bitmiş ürün yerine eski ve yeni keşfedilen kimyasalların insan sağlığı açısından değerlendirilmesini kapsamaktadır. Bununla birlikte biyofarmasötik ürünlerin etkililik ve güvenliliği kontrolünde kullanılan ISO standartları bulunmamaktadır.

KAYNAKLAR

[1] Özdemirhan ME, Algın Yapar E. Dünyadaki homeopati farmakopeleri. Türk Farmakope Dergisi. 2020; 5(2): 83-91.

[2] The International Pharmacopoeia. WHO Drug Information Vol. 27, No. 2, 2013;119-128. 28 Ağustos 2020 tarihinde https://www.who.int/medicines/publications/druginformation/issues/DI_27_2.pdf?ua=1 adresinden erişildi.

[3] World Health Organization, Geneva, Executive Board Room, (2013, Mart), Review of world pharmacopoeias. 16 Temmuz 2020 tarihinde https://www.who.int/medicines/areas/quality_safety/quality_assurance/resources/InternationalMeetingWorldPharmacopoeias_QAS13-512Rev1_25032013.pdf adresinden erişildi.

[4] Potency Tests for Cellular and Gene Therapy Products, U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration Center for Biologics Evaluation and Research January 2011.

[5] Biel SS, Gelderblom HR. Diagnostic electron microscopy is still a timely and rewarding method. J Clin Virol. 1999;13(1-2):105-119. doi:10.1016/s1386-6532(99)00027-x.

[6] Chapman K, Adjei A, Baldrick P, da Silva A, De Smet K, DiCicco R et al. Waiving in vivo studies for monoclonal antibody biosimilar development: National and global challenges. MAbs. 2016; 8(3):427-35.

[7] Brake K, Gumireddy A, Tiwari A, Chauhan H, Kumari D. In vivo studies for drug development via oral delivery: challenges, animal models and techniques. Pharm Anal Acta 2017, 8:9. DOI: 10.4172/2153-2435.1000560.

[8] Kumar S, Pal Singh M, Bharti VK, Pandey RP. Quality control of vaccines-A journey from classical approach to 3Rs.: Microbiology: Current Research. 2018; 2(3):45-61.

[9] Kenney LL, Shultz LD, Greiner DL, Brehm MA. Humanized mouse models for transplant immunology. American Journal of Transplantation 2016;16:389–397.

[10] De Mattia F, Chapsal JM, Descamps J et al. The Consistency approach for quality control of vaccines – A strategy to improve quality control and implement 3Rs. Biologicals 2011; (39): 59-65.

[11] European Pharmacopoeia 10.2. European Directorate for the Quality of Medicines and Health Care (EDQM), Strasbourg, 2020.

[12] The Japanese Pharmacopoeia 17th Edition. English Version, The Minister of Health, Labour and Welfare, 2016.

[13] The United States Pharmacopoeia 42 – National Formulary 37 2S. The United States Pharmacopeial Convention, Rockville, 2020.

[14] Türk Farmakopesi 2017, Sağlık Bakanlığı, Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu, Ankara, 2017.

[15] Alğın Yapar E, Turan E, Kızılay H, Gürsöz H. Animal tests for quality control of biopharmaceutics and medical devices. International İVEK Biotechnology Congress, 5-7 March 2020, Ottoman Archives Meeting Halls, İstanbul, Turkey.

[16] OECD Test guidelines for the chemicals. Organisation for Economic Co-operation and Development. 28 Ağustos 2020 tarihinde https://www.oecd.org/chemicalsafety/testing/oecdguidelinesforthetestingofchemicals.htm adresinden erişildi.

[17] OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4. Organisation for Economic Co-operation and Development. 28 Ağustos 2020 tarihinde https://www.oecd-ilibrary.org/environment/oecd-guidelines-for-the-testing-of-chemicals-section-4-health-effects_20745788 adresinden erişildi.

[18] International Organization for Standardization. 28 Ağustos 2020 tarihinde https://www.iso.org/home.html adresinden erişildi.

T.C. SAĞLIK BAKANLIĞI
TÜRKİYE İLAÇ VE
TIBBİ CİHAZ KURUMU

DERLEME MAKALESİ

Türk Farmakope Dergisi 2020, 5(3): 80-90
© Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu 2020

TIBBİ CİHAZLARIN KALİTE KONTROLÜNDE KULLANILAN STANDARTLAR

Serhat ALADAĞ, Evren ALĞIN YAPAR*

T.C. Sağlık Bakanlığı, Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu, Analiz ve Kontrol Laboratuvarları Dairesi Başkanlığı, 06430, Sıhhiye-Ankara.

elmek*: evren.yapar@yahoo.com

Geliş tarihi: 16.07.2020 / Kabul tarihi: 29.07.2020

ÖZET

Kalite kontrol; üretimi hedeflenen ürün veya ara ürünlere ait tasarım kriterlerinin üretim sonrasında karşılanma derecesini ifade etmektedir. Ürünün üretici tarafından beyan ve taahhüt edilen kalite güvencesinin ürünün faydalı ömrü boyunca korunması esastır. Arz/talep ilişkisinin bulunduğu mal ve hizmet sektöründe üretici ve tüketici ilişkisini düzenleyen ve denetleyen düzenlemeler, hukuki anlaşmalar ve teknik rehberler bulunmaktadır. Sağlık ürünlerinin belgelendirilmesi, ruhsatlandırılması, piyasaya arzı ve gözetim denetimi bu mevzuat ve teknik gereklilikler üzerinden gerçekleştirilmektedir. Üreticiler; ürünün kalite güvencesine esas teşkil eden tasarım kriterleri ve performans gerekliliklerini ürünün piyasaya arz edileceği bölgenin mevzuat gereklilikleri doğrultusunda ürün bazında kalite kontrol standardı belirlemeye yetkili standart organizasyonlarının belirlemiş oldukları teknik standartlar doğrultusunda hazırlamaktadır. Bu derlemede kalite kontrol, standardizasyon kuruluşları ve tıbbi cihazların kalite kontrolünde kullanılan uluslararası standartlara güncel genel bir bakış sunulacaktır.

Anahtar kelimeler: Kalite kontrol, Tıbbi cihazlar, Standardizasyon kuruluşları, Türk Standartları, Uluslararası standartlar.

STANDARDS FOR QUALITY CONTROL OF MEDICAL DEVICES

ABSTRACT

Quality control; it refers to the degree of meeting the design criteria of the intended product or semi-products after production. It is essential that the quality assurance of the product declared and guaranteed by the manufacturer is protected throughout the useful life of the product. There are regulations, legal agreements and technical guides that regulate and supervise the manufacturer and consumer relationship in the goods and services sector where the supply / demand relationship exists. Certification / licensing of health products, placing on the market and supervision are carried out through these legislations and technical requirements. Manufacturers; It prepares the design criteria and performance requirements that constitute the basis of the quality assurance of the product, in line with the legislative requirements of the region where the product will be placed on the market and in accordance with the technical standards determined by the standard organizations authorized to set a quality control standard on a product basis. In this review, an updated summary of quality control, standardization institutions and international standards used in the quality control of medical devices will be presented.

Keywords: Quality control, Medical devices, Standardization institutions, Turkish Standards, International standards.

GİRİŞ

İnsanda kullanımı hedeflenen tüm ürün ve hizmetler, hedef kitlesi itibarı ile hayati öneme haiz kullanım alanlarına sahip olabilmekte ve nihai ürünün kalitesiyle ilgili yaşanması muhtemel problemler de hayati sonuçlar doğurabilmektedir. Dolayısıyla; ürün ve hizmetlerin faydalı ömrü boyunca taahhüt edilen ve taşıması gereken asgari kalite kontrol kriterleri bulunmaktadır. Ürün ve hizmetlerin farklı coğrafyalara arzı nedeniyle standardizasyona ihtiyaç duyulmakta dolayısıyla ulusal/uluslararası standardizasyon kuruluşlarının güncel standartları oluşturmasına, ürün gelişimlerini karşılayacak değerlendirme kriterlerini belirlemesine ihtiyaç doğmaktadır.

Kalite Kontrol Kavramı

Standart ifadesi; “TS EN 45020:2007 Standartlaştırma ve İlgili Faaliyetler - Genel Terimler ve Tarifleri”nde *“Mutabakatla oluşturulmuş ve kabul edilmiş bir kurumca onaylanmış, mevcut şartlar altında en uygun seviyede bir düzen kurulmasını amaçlayan, ortak ve tekrarlanan kullanımlar için, faaliyetler ve* sonuçlarıyla ilgili kuralları, kılavuzluk bilgileri veya karakteristikleri içeren doküman” olarak tarif edilmektedir [1]. Tanımda da belirtildiği üzere standartlar, belirli bir alanda

düzen kurulmasını hedefleyen ve tekrarlanabilir asgari kuralları içermektedir. Dolayısıyla standardizasyon ürün, proses ve hizmetlerin amaçlarına uygunluklarının geliştirilmesi, kalite güvencesinin güçlenmesini ve teknolojik işbirliğinin kolaylaştırılmasını hedefler [2]. Kalite kontrol, ürün veya hizmetlerin belirlenen standartlara ve gerekliliklere uygunluğunu denetlemek amacıyla gerçekleştirilen doğrulama faaliyetleri ile bu faaliyetler sırasında kullanılan yöntem ve araçların bütünüdür [3]. Kalite kontrol; üretim öncesinde, üretim sırasında, üretim bitiminde ve kullanım sırasında gerçekleştirilebilmektedir. Ürünlerin piyasaya arzı sonrasında gerçekleştirilen kalite kontrol ise piyasa gözetim denetimi veya kullanıcı geri beslemeleri ile düzenleyici otoriteler tarafından gerçekleştirilmektedir.

Standardizasyon Kuruluşları

Ürün ve hizmetlerin tabi oldukları kalite kontrol standartlarına uyum, gönüllülük esasına bağlı olmakla beraber ulusal/uluslararası yasal düzenlemeler ile zorunlu uygulamalara yer verilebilmektedir. Özellikle sağlık sektöründe uygulanan standardizasyon çalışmaları, ürün ve hizmet kalitesini topluma faydalı olma ve amaca uygunluk yönünden ele alır [4]. Standardizasyon tüm küresel ölçekte veya küçük ölçekli kuruluşlar tarafından gerçekleştirilebilmektedir. Uluslararası, bölgesel ve ulusal standardizasyon kuruluşları ile uluslararası standardizasyon konsorsiyumları sırasıyla Tablo 1, 2, 3 ve 4'te verilmiştir.

Tablo 1. Uluslararası standardizasyon kuruluşları.

Kuruluş Adı	Statüsü
Uluslararası Standardizasyon Kuruluşu (International Organization for Standardization-ISO)	Uluslararası standart geliştiren ve yayımlayan Türkiye'nin de aralarında bulunduğu 164 ülkeden üyesi bulunan kar amacı gütmeyen bir organizasyondur. Türk Standardları Enstitüsü (TSE), ISO'nun 1956 yılından beri tam üyesidir [5].
Uluslararası Elektroteknik Komisyonu (International Electrotechnical Commission-IEC)	Uluslararası standartlar geliştiren ve elektro-teknoloji alanında uygunluk değerlendirme sistemlerini işleten, 1906 yılında İsviçre Kanunlarına göre kurulmuş, kar amacı gütmeyen uluslararası bir sivil toplum kuruluşudur. IEC'de, her ülkeyi bir Ulusal Komite üye olarak temsil edebilir. TSE, IEC'nin 1956 yılından beri tam üyesidir [6].

Tablo 2. Bölgesel standardizasyon kuruluşları.

Kuruluş Adı	Statüsü
Avrupa Standartlar Komitesi (Comité Européen de Normalisation-CEN)	1961 yılında o dönemdeki Avrupa Ekonomik Topluluğu (European Economic Community -EEC) ve Avrupa Serbest Ticaret Birliği (European Free Trade Association-EFTA) üyeleri tarafından kurulmuş olan bölgesel bir standart kuruluşudur. TSE, CEN'in 2012'den beri tam üyesidir. TSE, CEN tarafından yayımlanan Avrupa standartlarını uyumlaştırarak Türk standardı olarak yayımlamakta, ayna komiteler aracılığıyla standart hazırlama çalışmalarının takibi yapılmaktadır. CEN' in bazı teknik komitelerinde sekretarya görevi TSE tarafından yürütülmektedir [7]. Avrupa Standartları (European Standards- EN), üç Avrupa Standardizasyon Örgütü (CEN, CENELEC veya ETSI) tarafından yayınlanan standartlardır.
Avrupa Elektroteknik Standardizasyon Komitesi (Comité Européen de Normalisation Électrotechnique - CENELEC)	Elektrik ve elektroteknik konularında Avrupa standardı hazırlayan bölgesel bir standart kuruluşudur. Elektroteknik alanındaki standardizasyon faaliyetlerinden sorumlu bir kuruluştur. Ülkeler arasındaki ticareti kolaylaştıran, yeni pazarlar yaratan, uygunluk maliyetlerini düşüren ve Avrupa pazarının birlik olarak gelişimini destekleyen gönüllü standartlar hazırlar. TSE, CENELEC'e 2012 yılında tam üye olmuştur [8].
Avrupa Telekomünikasyon Standartları Enstitüsü (European Telecommunications Standards Institute – ETSI)	Bilgi Teknolojileri ve İletişim Kurumunun gözlemci statüde üye olduğu ETSI, 1988 yılında kurulmuştur. Enstitü'nün 55 ülkeden 688 üyesi bulunmaktadır. AB'nin girişimi ile CEPT, CEN ve CENELEC uzmanları tarafından kurulan Enstitüsü'nün amacı, üye ülkeler arasında telekomünikasyon altyapılarını birleştirmek, terminal donanımlarının uyumluluğunu sağlamak ve Avrupa telekomünikasyon ağını oluşturmaktır [9].

Tablo 3. Bazı ulusal standardizasyon kuruluşları [10].

Ulusal Standardizasyon Kuruluş Adı
Türk Standardları Enstitüsü - TSE
İngiliz Standartlar Enstitüsü (British Standards Institution – BSI)
Alman Standartlar Enstitüsü (Deutsches Institut für Normung - DIN)
Amerikan Ulusal Standartlar Enstitüsü (American National Standards Institute - ANSI)
Japon Endüstriyel Standartlar Komitesi (Japanese Industrial Standards Committee - JISC)
Avustralya Standartları (Standards Australia - SA)
Fransız Standardizasyon Birliği (Association Française de Normalisation - AFNOR)
İspanyol Standardizasyon Birliği (Asociación Española de Normalización - UNE)
Çin Halk Cumhuriyeti Standardizasyon İdaresi (Standardization Administration of China - SAC)
Hindistan Standartları Bürosu (Bureau of Indian Standards - BIS)
Kanada Standartlar Konseyi (Standards Council of Canada - SCC)

Tablo 4. Standardizasyon amaçlı konsorsiyumlar.

Kuruluş Adı	**Statüsü**
Amerikan Test ve Materyal Topluluğu (American Society for Testing and Materials -ASTM)	1898 yılında kurulmuştur. 140'tan fazla ülkeden teşkil olunmuş uzman grupları ile nanoteknoloji, üretim yöntemleri, tıbbi cihazlar gibi birçok uzman komitesi bulunan standart topluluğudur. Standart veri tabanında 12.000'den fazla yayımlı standart yer almaktadır [11].
Amerikan Makine Mühendisleri Topluluğu (The American Society of Mechanical Engineers - ASME)	1880 yılında kurulmuştur. 140'tan fazla ülkeden teşkil olunmuş 100.000'den fazla üye ile tüm mühendislik disiplinlerinde işbirliği, bilgi paylaşımı ve çözümler üzerine standardizasyon çalışmalarını yürüten topluluktur [12].
Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü (Clinical and Laboratory Standards Institute - CLSI)	1968 yılında kurulmuştur. Klinik laboratuvar testleri ve *in vitro* tanı testlerinde standardizasyonu hedefleyen kuruluştur [13].
Tıbbi Enstrümantasyonun Geliştirilmesi Birliği (The Association for the Advancement of Medical Instrumentation - AAMI)	1967 yılında kurulmuştur. 9000'den fazla üyeden oluşan topluluğun misyonu güvenli ve etkili sağlık ürünlerinin geliştirilmesidir [14].
Elektrik ve Elektronik Mühendisleri Enstitüsü (The Institute of Electrical and Electronics Engineers - IEEE)	1963 yılında kurulmuştur. 160 ülkeden teşkil olunmuş 395.000'den fazla üye ile nanoteknoloji, biyomühendislik, biyomedikal mühendisliği, robotik ve elektronik malzemeler temelinde ürünlerin kalitesini artırmak misyonuyla hizmet vermektedir [15].

Tıbbi Cihazlar

07.06.2011 tarih ve 27957 sayılı Resmi Gazete'de yayımlanan Tıbbi Cihaz Yönetmeliği'nde tıbbi cihaz, *"İnsanda kullanıldıklarında aslî fonksiyonunu farmakolojik, immünolojik veya metabolik etkiler ile sağlamayan fakat fonksiyonunu yerine getirirken bu etkiler tarafından desteklenebilen ve insan üzerinde; 1) Hastalığın tanısı, önlenmesi, izlenmesi, tedavisi veya hafifletilmesi ya da 2) Yaralanma veya sakatlığın tanısı, izlenmesi, tedavisi, hafifletilmesi veya mağduriyetin giderilmesi ya da 3) Anatomik veya fizyolojik bir işlevin araştırılması, değiştirilmesi veya yerine başka bir şey konulması veyahut 4) Doğum kontrolü amacıyla kullanılmak üzere imal edilmiş, tek başına veya birlikte kullanılabilen, imalatçısı tarafından özellikle tanı ve/veya tedavi amaçlı kullanılmak üzere imal edilmiş ve tıbbi cihazın amaçlanan işlevini yerine getirebilmesi için gerekli olan yazılımlar da dahil, her türlü araç, alet, teçhizat, yazılım, aksesuar veya diğer malzemelerdir."* olarak tanımlanmaktadır. Tıbbi cihazlar; üreticileri tarafından belirlenen güvenlik seviyeleri ve performans kriterleri sonrasında uygunluk değerlendirme prosedürünü tamamlayarak piyasaya arz edilir (Tablo 5).

Tablo 5. Tıbbi cihazların risk sınıflandırması ve uygunluk değerlendirme prosedürleri [16].

Tıbbi Cihaz Sınıfı	Uygunluk Değerlendirme Prosedürü	Ek İşlemler
Sınıf I: düşük risk Örn: eldivenler	Ek VII (teknik dokümantasyon)	-
Sınıf Is, steril: düşük risk Örn: steril pansumanlar	Ek VII ve Ek II Bölüm 4; Ek IV (toplu test), V (üretim kalite güvence sistemi denetimi), ya da VI (muayene kalite güvence denetimi)	-
Sınıf Im, ölçüm fonksiyonu olan: düşük risk Örn: non-invaziv tansiyon ölçerler	Ek VII ve Ek II Bölüm 4; Ek IV, V, ya da VI	-
Sınıf IIa: Düşük-orta riskli Örn: cerrahi bıçaklar, cerrahi aspiratörler	Ek VII; Ek IV, V, ya da VI	ISO 13485 (tam kalite güvence denetimi)
Sınıf IIb: Orta ila yüksek risk Örn: ventilatörler, bazı implantlar, radyoterapi ekipmanları	Ek III; Ek IV, V, ya da VI	ISO 13485
Sınıf III: Yüksek risk; Örn: İlaç salınımlı kalp stentleri, kalp pilleri	Ek III; Ek IV ya da V	Onaylanmış kuruluşa dosyayla ISO 13485

09.01.2007 tarih ve 26398 sayılı Resmi Gazete'de yayımlanan Vücut Dışında Kullanılan (İn Vitro) Tıbbi Tanı Cihazları Yönetmeliği'nde *in vitro* tıbbi tanı cihazı (cihaz), "*İmalatçı tarafından esas olarak; 1) Fizyolojik veya patolojik durum veya 2) Konjenital anomalilerle ilgili bilgi edinmek ya da 3) Muhtemel alıcılar için uygunluk ve güvenliği belirlemek veyahut 4) Tedaviyi izlemek amacıyla, tek başına veya birlikte kullanılmasına bakılmaksızın, kan ve doku bağışları da dahil olmak üzere insan vücudundan alınan numunelerin in-vitro incelenmesi için tasarlanan reaktif, reaktif ürünü, kalibratör, kontrol materyali, kit, araç, gereç, ekipman veya sistem olan bütün tıbbi cihazları ve vakumlu özelliğe sahip olsun veya olmasın, imalatçıları tarafından özellikle, in-vitro tıbbi tanı incelemesi için insan vücudundan alınan örneklerin konulması ve muhafaza edilmesi amacıyla kullanılan numune kapları*" olarak tanımlanmaktadır.

07.06.2011 tarih ve 27957 sayılı Resmi Gazete'de yayımlanan Vücuda Yerleştirilebilir Aktif Tıbbi Cihazlar Yönetmeliği'nde vücuda yerleştirilebilir aktif tıbbi cihaz, "tamamı veya bir kısmı, tıbbi veya cerrahi bir müdahale ile insan vücuduna ya da doğal bir vücut girişine veya boşluğuna yerleştirilen ve yerleştirildiği yerde kalması gereken aktif tıbbi cihazları" olarak tanımlanmaktadır.

Tıbbi Cihazlara ilişkin belgelendirme ve piyasa gözetim denetimi; Avrupa Birliği bölgesinde üç mevzuat ile düzenlenmektedir, bunlar:

1-Aktif İmplante Edilebilir Tıbbi Cihazlara İlişkin 90/385/EEC sayılı Konsey Direktifi (AIMDD) (1990).

2-Tıbbi Cihazlara İlişkin 93/42/EEC sayılı Konsey Direktifi (1993).

3- İn Vitro Tıbbi Tanı Cihazlarında 98/79/EC sayılı Konsey Direktifi (IVDMD) (1998).

Avrupa Komisyonu; tıbbi cihazlara ilişkin yasal düzenlemelerin gözden geçirilmesi çalışmalarını 2012 yılında başlatmış ve Avrupa Komisyonu'nun 2017/745 sayılı "Tıbbi Cihaz Tüzüğü" ile 2017/746 sayılı "İn Vitro Tıbbi Tanı Cihazları Tüzüğü" 05 Mayıs 2017 tarihinde Avrupa Birliği Resmi Gazetesi'nde yayımlanmıştır. Bu tüzükler ile hasta ve kullanıcıların sağlık ve güvenliğinin yüksek seviyede korunması, tıbbi cihazların performans ve güvenliliğinin yüksek seviyede sağlanması, inovasyonun desteklenmesi, şeffaf, sağlam ve sürdürülebilir bir tıbbi cihaz alanı oluşturulması hedeflenmiştir. Bahsi geçen tüzükler ile mevcutta uygulanan direktiflere kıyasla; tıbbi cihazların satış öncesi ve piyasaya arz sonrası tüm süreçleri detaylandırılmakta, iktisadi işletmelere ve onaylanmış kuruluşlara yeni yükümlülükler getirilmekte ve yetkili otoritelere daha fazla sorumluluk verilmektedir. İlgili tüzüklerin önümüzdeki dönemde uygulamaya alınarak mevcutta uygulanan Tıbbi Cihaz Direktifi, Vücuda Yerleştirilebilir Aktif Tıbbi Cihazlar Direktifi ve İn Vitro Tıbbi Tanı Cihazları Direktifi'nin yürürlükten kaldırılacağı ön görülmektedir.

Tıbbi Cihaz Kalite Kontrol Standartları

Standardizasyon kuruluşları tarafından tıbbi cihazlar alanında yayınlanmış bazı kalite kontrol standartları Tablo 6'da yer almaktadır.

Tablo 6. Bazı tıbbi cihaz kalite kontrol standartları.

Tıbbi Cihaz Adı	Standardizasyon Kuruluşu	Standart Adı ve Numarası
Şehir şebekesi ile çalışan tüm tıbbi cihazlar	EN	EN 60601-1 Medical electrical equipment – Part 1: General requirements for basic safety and essential performance
Ventilatörler	ISO	ISO 80601-2-12 Medical electrical equipment – Part 2-12: Particular requirements for basic safety and essential performance of critical care ventilator
Kalça Protezleri	ISO	ISO 7206-4 Implants for surgery partial and total hip joint prostheses – Part 4: Determination of endurance properties and performance of stemmed femoral components
Metalik Kemik Plakaları	ASTM	ASTM F382: Standard Specification and Test Method for Metallic Bone Plates
Metalik Açılı Ortopedik Kırık Fiksasyon Cihazları	ASTM	ASTM F384: Standard Specifications and Test Methods for Metallic Angled Orthopedic Fracture Fixation Devices.
Metal Kemik Vidaları	ASTM	ASTM F543: Standard Specification and Test Methods for Metallic Medical Bone Screws.
Intrameduller Çiviler	ASTM	ASTM F1264: Standard Specification and Test Methods for Intramedullary Fixation Devices.
Eksternal Fiksatörler	ASTM	ASTM F1541: Standard Specification and Test Methods for External Skeletal Fixation Devices.
Tıbbi Cihaz Biyouyumluluk Testleri	ISO	ISO 10993 (Genotoksisite, kan uyumluluğu, sitotoksisite, implantasyon, iritasyon, sensitizasyon, sistemik toksisite, malzeme ve kimyasal karakterizasyon testi)
İmplante edilebilir tıbbi cihazlar	ASTM	ASTM-F2213 Standard Test Method for Measurement of Magnetically Induced Torque on Medical Devices in the Magnetic Resonance Environment
Kardiyovasküler İmlantlar	ISO	ISO 5840-1 Cardiovascular implants - Cardiac valve prostheses - Part 1: General requirements
Cerrahi Maskeler	EN	EN 14683 Surgical masks – Requirements and test methods

Tablo 6. Bazı tıbbi cihaz kalite kontrol standartları (Devamı).

Defibrilatörler	IEC	IEC 60601-2-4 Medical electrical equipment – Part 2-4: Particular requirements for the basic safety and essential performance of cardiac defibrillators
Endoskopik Ekipmanlar	IEC	IEC 60601-2-18 Medical electrical equipment – Part 2-18: Particular requirements for the basic safety and essential performance of endoscopic equipment
Kan Gazı ve pH Analizörü	CLSI	CLSI C46-A2 Blood gas and pH analysis and related measurements; Approved guideline
Sağlık tesislerindeki tıbbi cihazların elektromanyetik uyumluluğu	AAMI	AAMI TIR18:2010 Guidance on electromagnetic compatibility of medical devices in healthcare facilities
Modelleme	ASME	V V 40 Assessing Credibility of Computational Modeling through Verification and Validation: Application to Medical Devices
Tıbbi Cihazlar	TSE	TS EN ISO 11737-2 Tıbbi cihazların sterilizasyonu - Mikrobiyolojik yöntemler - Bölüm 2: Bir sterilizasyon sürecinin tarifi, geçerli kılınması ve sürdürülmesinde gerçekleştirilen sterilite deneyleri [17]
Aktif tıbbi cihazlar	ETSI	ETSI EN 301 839 Ultra Low Power Active Medical Implants (ULP-AMI) and associated Peripherals (ULP-AMI-P) operating in the frequency range 402 MHz to 405 MHz; Harmonised Standard covering the essential requirements of article 3.2 of the Directive 2014/53/EU
Tıbbi Cihazlar	ISO	ISO 14971 Medical devices — Application of risk management to medical devices
Tıbbi Cihazlar	ISO	ISO 13485 Medical devices — Quality management systems — Requirements for regulatory purposes

Kalite kontrol sürecinde gerekli olacak valide metot açığını standart metotların kapatması, kalite kontrol faaliyetini yürütecek laboratuvarların validasyon giderlerini azaltmaktadır. Bu da gerek üretim bandında faaliyet gösteren kalite kontrol laboratuvarlarına gerekse piyasa kontrol için analiz faaliyeti yürüten kalite kontrol laboratuvarlarına zaman ve maliyet faydası sağlamaktadır. Kalite kontrol laboratuvarlarının üretici ve düzenleyici otoriteler nezdinde geliştirilmesi ile son kullanıcının kaliteli ürüne erişimi daha etkin kontrol edilebilecektir. Oldukça geniş yelpazeye sahip olan tıbbi cihaz alanında genel olarak üretim ve kalite kontrol faaliyetlerinin standartlarla tanımlanması

laboratuvar akreditasyon sürecini de kolaylaştırmaktadır. Kalite kontrol laboratuvarlarının akreditasyonunun gönüllülük esasına dayanmasına rağmen günümüzde gerek kalite güvencesini desteklemek gerekse uluslararası tanınırlık için laboratuvarlar akreditasyonu tercih edebilmektedir.

SONUÇ

Geniş bir ürün grubuna sahip olan ve kullanım sıklığı göz önünde bulundurulduğunda hayati öneme sahip olan tıbbi cihazların kalite kontrol testleri oldukça önem arz etmektedir. Tıbbi cihazların kalite kontrol testlerine ilişkin birçok standardizasyon kuruluşu tarafından yayınlanmış kalite kontrol standardı yer almaktadır. Ürünlerin üretiminden nihai kullanıma kadarki süreçte kalitesinin sürekliliğini sağlamak adına çeşitli kurum ve kuruluş tarafından yayınlanan bu standartlar çoğunlukla üretimin kalitesini artırmaya yönelik standartlar olup aynı zamanda bitmiş ürünlerin kalitesinin kontrolü için gerekli analiz prosedürlerini de tanımlamaktadır. Tıbbi cihaz alanında kilit rol oynayan standardizasyon kuruluşları ve bazı kalite kontrol standartları ile derlenmek suretiyle tıbbi cihazların büyük çoğunluğunun üretiminden kullanımına kadarki sürecin kontrol altına alınabildiği bilinmektedir. Öte yandan ilaç, tıbbi cihaz ve biyolojik ürün içeren kombine ürünlerin belgelendirilmesi/ruhsatlandırılması ile bu ürünlere ilişkin kalite kontrol testlerinin geliştirilmesi ve standardize edilmesi kalite kontrol alanında geliştirilmesine ihtiyaç duyulan konulardır.

KAYNAKÇA

[1] TS EN 45020:2007 Standartlaştırma ve İlgili Faaliyetler - Genel Terimler ve Tarifleri

[2] Standart ve Standardizasyon. 14.07.2020 tarihinde https://www.tse.org.tr/IcerikDetay?ID=2900&ParentID=9180 adresinden erişildi.

[3] Cabuk S. Kalite Yönetim Sistemlerinde Temel Kavramlar: Kalite Kontrol, Kalite Güvence ve Kalite İyileştirme. Anadolu Üniversitesi, 2013: 46-73.

[4] Geven A, ÖZCAN S, CAN NÖ. TS EN ISO/IEC 17025 Deney ve Kalibrasyon Laboratuvarlarının Yeterliliği İçin Genel Şartların İncelenmesi. Türk Farmakope Dergisi. 2019; 4(2): 64-82.

[5] Uluslararası Standardizasyon Kuruluşu (ISO - International Organization for Standardization). 14.07.2020 tarihinde https://www.tse.org.tr/IcerikDetay?ID=2933&ParentID=9309 adresinden erişildi.

[6] Uluslararası Elektroteknik Komisyonu (IEC-International Electrotechnical Commission) 14.07.2020 tarihinde https://www.tse.org.tr/IcerikDetay?ID=2933&ParentID=9310 adresinden erişildi.

[7] Avrupa Standartlar Komitesi (CEN- Comité Européen de Normalisation). 14.07.2020 tarihinde https://www.tse.org.tr/IcerikDetay?ID=2933&ParentID=9311 adresinden erişildi.

[8] Avrupa Elektroteknik Standardizasyon Komitesi (CENELEC - Comité Européen de Normalisation Électrotechnique). 14.07.2020 tarihinde https://www.tse.org.tr/IcerikDetay?ID=2933&ParentID=9312 adresinden erişildi.

[9] Avrupa Telekomünikasyon Standartları Enstitüsü-ETSI. 14.07.2020 tarihinde https://www.btk.gov.tr/etsi adresinden erişildi.

[10] Bazı Ulusal Standardizasyon Kuruluşları. 14.07.2020 tarihinde https://www.tse.org.tr/IcerikDetay?ID=2900&ParentID=9181 adresinden erişildi.

[11] Amerikan Test ve Materyal Topluluğu (ASTM-American Society for Testing and Materials). 14.07.2020 tarihinde https://www.astm.org/ABOUT/overview.html adresinden erişildi.

[12] Amerikan Makine Mühendisleri Topluluğu (ASME-The American Society of Mechanical Engineers). 14.07.2020 tarihinde https://www.asme.org/about-asme adresinden erişildi.

[13] Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü (CLSI-Clinical and Laboratory Standards Institute). 14.07.2020 tarihinde https://clsi.org/about/about-clsi/ adresinden erişildi.

[14] Tıbbi Enstrumentasyon Geliştirme Topluluğu (AAMI-The Association for the Advancement of Medical Instrumentation). 14.07.2020 tarihinde https://www.aami.org/about-aami adresinden erişildi.

[15] Elektrik ve Elektronik Mühendisleri Enstitüsü (IEEE-The Institute of Electrical and Electronics Engineers). 14.07.2020 tarihinde https://standards.ieee.org/content/ieee-standards/en/about/index.html adresinden erişildi.

[16] Bahçeci S. Türkiye'de Tıbbi Cihaz Kayıt Sisteminin Değerlendirilmesi, Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Sosyal Bilimler Enstitüsü, Ankara, 2018.

[17] Cengiz G, Algın Yapar E. Mikrobiyolojik kontrol laboratuvarlarının uluslararası gereklilikleri. Türk Farmakope Dergisi. 2020; 5(1): 99-109.

T.C. SAĞLIK BAKANLIĞI
TÜRKİYE İLAÇ VE TIBBİ CİHAZ KURUMU

DERLEME MAKALESİ

Türk Farmakope Dergisi 2020, 5(3): 91-101
© Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu 2020

İYİ LABORATUVAR UYGULAMALARI – İLU VE TS EN ISO/IEC 17025 STANDARDI İLE KIYASLAMASINA GÜNCEL BİR BAKIŞ

Gökhan CENGİZ, Evren ALĞIN YAPAR*

T.C. Sağlık Bakanlığı, Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu, Analiz ve Kontrol Laboratuvarları Dairesi Başkanlığı, 06430, Sıhhiye-Ankara.

elmek*: evren.yapar@yahoo.com

Geliş tarihi: 16.07.2020 / Kabul tarihi: 04.08.2020

ÖZET

Farmasötik ürünlerin üretim içi ve bitmiş ürün kalite kontrol verileri oldukça önemlidir. Bu amaçla yürütülen faaliyetlerin kalitesini sağlamak amacıyla Uluslararası Standardizasyon Örgütü tarafından TS EN ISO/IEC 17025 standardı ile Ekonomik Kalkınma ve İşbirliği Örgütü tarafından İyi Laboratuvar Uygulamaları-İLU ilkeleri oluşturulmuştur. İki kalite yönetim sistemi de uluslararası olarak onaylanmıştır ve farmasötik laboratuvar uygulamalarının tamamı bu standart gerekliliklerine uygun olmalıdır. Temel olarak TS EN ISO/IEC 17025 ve İLU prensipleri benzerlik gösterir ancak TS EN ISO/IEC 17025 analitik konularda daha detaylı bilgilere ihtiyaç duyar. Farmasötik ve tıbbi ürünlerin üretimi ve kalite kontrol süreçlerinin değerlendirilmesinde bu standartlar kullanılmaktadır Ayrıca farmasötik ve tıbbi ürünlerin üretim ve kalite kontrolünde yol gösterilmesi amacıyla Dünya Sağlık Örgütü tarafından İyi İmalat Uygulamaları – İİU ve İLU konularında rehberler hazırlanmıştır. Üretim ve araştırma çalışmalarında İİU ve İLU rehberleri kullanılmaktadır. Deneysel ölçümde ise TS EN ISO/IEC 17025 standardı test güvenilirliğinin güvence altına alınması için önemlidir. Bu çalışmada, özellikle farmasötik üretimlerde ve Ar-Ge faaliyeti gösteren laboratuvarlarda uygulanması gereken kalite sistemlerinden olan İLU gereklilikleri ve TS EN ISO/IEC 17025 standardı ile benzerlikleri değerlendirilmiştir.

Anahtar kelimeler: İyi Laboratuvar Uygulamaları – İLU, Güncel İyi Laboratuvar Uygulamaları, TS EN ISO/IEC 17025, Laboratuvar akreditasyonu, Kalite kontrol.

A CURRENT OVERVIEW ON GOOD LABORATORY PRACTICES-GLP AND COMPARISON WITH TS EN ISO/IEC 17025 STANDARD

ABSTRACT

In-process and final product quality control data of pharmaceutical products are essential. In order to ensure the quality of the activities carried out for this purpose, TS EN ISO/IEC 17025 standard and the International Organization has established Good Laboratory Practices-GLP principles for Standardization and the Organization for Economic Development and Cooperation respectively. Both quality management systems are internationally approved, and all pharmaceutical laboratory practices must comply with these standard requirements. TS EN ISO / IEC 17025 and GLP principles are similar, but TS EN ISO/IEC 17025 needs more detailed information on analytical issues. These standards are used in the manufacturing of pharmaceutical and medical products and the evaluation of quality control processes. Besides, guidelines have been prepared by the World Health Organization on Good Manufacturing Practices - GMP and GLP to guide the production and quality control of pharmaceutical and medical products. GMP and GLP guides are used in manufacturing and research studies. In the experimental measurement, the TS EN ISO / IEC 17025 standard is essential for ensuring test reliability. In this study, GLP requirements, which are among the quality systems that should be applied, especially in pharmaceutical manufacturing and laboratories with R&D activities, and their similarities with TS EN ISO / IEC 17025 standard, were evaluated.

Keywords: Good Laboratory Practices – GLP, Current Good Laboratory Practices, ISO/IEC 17025, Laboratory accreditation, Quality control.

GİRİŞ

İyi Laboratuvar Uygulamaları klinik çalışmalar ve araştırmalar haricindeki sağlık ve çevre güvenliği çalışmalarının planlanması, yapılması, izlenmesi, kaydedilmesi, arşivlenmesi, raporlanmasına yönelik şartları ve yönetim usulleri ile ilgili kalite sistemini ifade eder. Ekonomik Kalkınma ve İşbirliği Örgütü-EKİÖ (Organisation for Economic Co-operation and Development-OECD) tarafından, İyi Laboratuvar Uygulamaları – İLU ile ilgili düzenlemeler 1970'li yıllarda üretimde yürütülen faaliyetlerin getirdiği güvenlik ihtiyacına istinaden hazırlanmıştır. İLU'nun amacı, sektörde güvenlilik testleri üzerinde yapılan çalışmaları ve çalışanların uygulamalarını düzenlemektir. Yirminci yüzyılın ortalarından itibaren hızla gelişen bilim ve teknoloji sayesinde insanlık için birçok yeni ve etkin ilaç üretilmeye başlanmıştır. Alınan sonuçlar doğrultusunda araştırmalara hız verilmiş ancak yeni ilaçların yanında üretilen farmasötik ürünlerin bileşiminde değişiklik getirmeyen ve güvenlilik problemleri ile karşılaşılan ilaçlar da ortaya çıkmıştır. Bu durum

sonucunda yeni ilaçların aksi tesir, yan etki ve toksik özelliklerinin daha çok araştırılması amacıyla Dünya Sağlık Örgütü-DSÖ tarafından İyi İmalat Uygulamaları-İİU ve İyi Laboratuvar Uygulamaları-İLU konularında yol gösterici rehberler hazırlanmıştır. Böylece ilaçların etkili, güvenli ve kaliteli olmasını teminen gerek üretici için gerekse üretim sonrası yapılan araştırmalar için mesuliyetin paylaşılması zorunluluğu doğmuştur. Bu doğrultuda yapılan ve yapılacak çalışmalarda imal edilen ilaçların hastalar üzerindeki potansiyel etkisinin araştırılmasının önemine istinaden ilaç üretiminde yapılacak çalışmalarla güvenilirliğin ve doğruluğun sağlanması adına kontrol mekanizması geliştirilmiştir. Farmasötik ürünün üretim aşaması kadar nihai kullanıcı üzerindeki etkisi de önem arz ettiğinden bu sürecin birlikte değerlendirilmesi gerekliliği açığa çıkmıştır. Üretimden nihai kullanıma kadarki süreci kontrol altında tutabilmek için imalatta İİU, kalite kontrolde ise yapılacak laboratuvar faaliyetleri için İLU ve ilacın kullanımı için İyi Klinik Uygulamaları – İKU geliştirilmiştir [1,2]. Bu derlemede, özellikle farmasötik üretimlerde ve Ar-Ge faaliyeti gösteren laboratuvarlarda İLU gerekliliklerine ve de kalite kontrol analizleri yürüten laboratuvarlarda uygulanması gereken TS EN ISO/IEC 17025 standardı ile karşılaştırılmasına değinilmektedir.

İYİ LABORATUVAR UYGULAMALARININ TEMEL NOKTALARI

İLU'nun amacı kuruluş faaliyetini belirlenen plan ve standart işlemlere göre gerçekleşmesini sağlayacak kuralları belirleyerek yürütülen faaliyet ile ilgili güvenilirliği ve kaliteyi sağlamaktır. Ayrıca bu doğrultuda yapılacak iş ve işlemlerle ilgili verilerin karşılaştırılabilir nitelikte olmasını sağlamak, gereksiz kaynak ve zaman kaybını önlemektir. Belirlenen bu uygulamalar araştırma veya üretim programının içeriğini yönetmemekte ve çalışmaların bilimselliğini de değerlendirmeyi amaçlamamaktadır. Tüm İLU uygulamaları köken olarak aşağıda belirtilen hususları vurgulamaktadır [2].

- Kaynaklar; organizasyon, personel, tesisler ve donanım,
- Tanımlama; test maddeleri ve test sistemleri,
- Kurallar; çalışma planları (veya protokoller) ve yazılı işlemler,
- Sonuçlar; ham veriler, nihai rapor ve arşivler,
- Kalite güvencesi.

Kaynaklar

İLU düzenlemeleri ile Ar-Ge ve üretim organizasyonlarının yapısı ve sorumlulukları açıkça tanımlanır. Ayrıca sorumluluk alanına giren görevlerin yerine getirilmesi için yeterli personel kaynağının olması gereklidir. Bu alanda faaliyet gösteren personelin nitelikleri ve almış olduğu eğitimler de tanımlanmalı ve belgelenmelidir. Personel haricinde tesis ve donanımların da ihtiyacı

belirlenmeli, tüm alt yapı ile süreklilik sağlanmalıdır. Bu durum için katı bir yeterlilik programı, kalibrasyon ve bakım süreci benimsenmelidir [2].

Tanımlama

Yürütülen faaliyetin kararlı ve doğru bir şekilde gerçekleştirilmesi için kullanılacak tüm alt yapı ve malzeme hakkında bilgi sahibi olunması ve bu hususların tanımlanması önemlidir. Farmasötik ürünlerin özelliklerini değerlendiren ve klinik olmayan araştırmalarda analiz edilen bileşikler hakkında ayrıntıların tanımlanması önem arz etmektedir. Bu süreçte kullanılacak madde ve malzemenin tanımlanması ve iyi araştırılmasının yanında hedef kitle üzerindeki etkilerinin de belirlenerek tanımlanması önemlidir [2].

Kurallar

Protokoller ve yazılı işlemler ile araştırma çalışmalarının ana aşamaları tanımlanmış olmalıdır. Çalışmaların tekrar edilebilir olması ve yapılan tekrar çalışmaları sonucunda benzer sonuçların elde edilebilmesi, verilerin karşılıklı olarak kabul edilmesinin olmazsa olmaz koşuludur. Bununla birlikte, çalışma için deneysel tasarım ve zaman çerçevesi sağlayan protokol, çalışmanın yürütülmesi için gerekli tüm teknik ayrıntıları içermemektedir. Bu ayrıntılar yazılı Standart Çalışma Prosedürlerinde-SÇP tanımlanmalıdır. Gerektiğinde çalışmaların protokol ve SÇP'ler aracılığı ile tam olarak tekrarlanması mümkün olmalıdır [2].

Sonuçlar

İşlenmemiş veri (Ham veri): Yürütülen faaliyetler kapsamında tüm çalışmalar ham veri üretir. Bunlar araştırmanın sonucudur ve bilimsel yorumların oluşturulması, sonuçlara varılması için temel oluşturmaktadır. Ham veriler ayrıca çalışma işlem ve koşullarını yansıtmalıdır.

Nihai rapor: Son rapor olan çalışma raporu, çalışmanın gerçekleştirilme şeklini, çalışma sonuçlarını ve verilerin bilimsel yorumunu içerir. Rapor, ruhsatlandırma ve pazarlama onayının sunulmasının bir parçası olarak düzenleyici otoritelere sunulmaktadır.

Arşiv: Kayıtların saklanması, kayıtların saklama süresi boyunca güvenli kalmasını sağlamalı ve hızlı bir şekilde geri alınmasına izin vermelidir [2].

Kalite Güvencesi

İLU tarafından tanımlanan Kalite güvencesi, laboratuvarda İLU uyumluluğunun sağlandığından emin olmakla görevlendirilen kişilerden oluşan bir ekiptir. Kalite güvencesi, yapılan çalışmanın operasyonel yönlerinde yer alan bilim insanlarından bağımsız olmalıdır. Kalite güvencesi, klinik olmayan araştırma sürecinin tümüne tanıklık eder [2].

Kalite güvencesi, İLU kapsamında olan kuruluşlarda kalite kontrol testleri ve farmasötik üretim kalitesini sağlamak için yürütülen iş ve işlemlerle ilgili bir kalite onaylama sistemidir. Yürütülen faaliyetler sonucunda elde edilen verilerin kalitesini sağlayacak şekilde işletilir ve çıktıların kalite kontrol ölçütlerine göre uygunluğunu delillerle kanıtlar. Bu süreçte amaç; farmasötik üretim ve üretim sonrası araştırma yapmak, kalite kontrol analiz işlemlerini dokümantasyon ile kontrol altında tutarak doğruluğunu kanıtlamak, kalite kontrol ölçütlerine uygunluğu sağlamak ve kontrol etmektir. Kalite güvencesi, temel olarak yürütülen tüm faaliyetlerde, laboratuvarda faaliyet sonucunda elde edilen çıktının arzulanan ve planlanan kaliteye sahip olmasını sağlayan ve faaliyete göre belirlenecek delillerle izlenebilirliğini sağlanan aktivitelerin bütününü kapsar. Kalite güvencesi, elde edilen farmasötik üründe yapılacak olan kalite kontrol işlemlerinin doğru olarak gerçekleştirildiğinden emin olarak ürün kalitesini denetlemektedir. Söz konusu kontrol, farmasötik ürünün kalite kontrolü için olmazsa olmaz bir ölçüt olup organizasyonun yaptığı işlemlerdendir.

- Kalite güvencesi, kalite sistemi içerisinde yürütülen planlanmış ve sistematik olarak bütün faaliyetin uygulanması, bu süreçte gereklilik olarak belirtilen hususların gösterilmesi ve kuruluşun kalite şartlarını uygulaması için yeterli güvenceyi vermesidir. Temel olarak yürütülen tüm faaliyetlerde doğruluğu tutulan kayıtlarla ispatlayabilmek, standartlara ve yöntem kabul kriterlerine göre uygun, güvenilir ve aynı kaliteyi sağlayacak şekilde sürekliliği olan analiz hizmetleri sağlamak esastır.
- Kalite kontrol ise yürütülen faaliyetlerin kalite güvencesi ile belirlenen gerekliliklere uygunluğunu doğrulamak için kullanılan uygulanabilir teknikler ve işlemlerdir. Kontrol edilen faaliyet ürün ya da hizmet süreci olabilir. Kalite kontrol doğrultusunda amaçlanan husus işlemin kalitesidir.

Kalite kontrol ve akreditasyon

Kalite kontrol analizleri; üretim ya da hizmet sürecinde elde edilen çıktıların kontrol edilmesi için faaliyetin paralel çalışmalarla, valide yöntemlerle ya da şahit materyallerle karşılaştırarak elde edilen verilerin doğruluğunun belirlenmesi ve kanıtlanması için yapılan iş ve işlemlerdir. Kalite kontrol çalışmaları laboratuvar nezdinde iç kalite kontrol çalışmaları ve dış kalite kontrol çalışmaları olarak ikiye ayrılmıştır. İç kalite kontrol çalışmaları, analizin yapıldığı laboratuvarda görevli analizci (analist) tarafından yürütülen işlemin bireysel ve eşlikçisi tarafından sürekli olarak

izlenmesi ve elde edilen verilerin kalitesinin sürekli olarak değerlendirildiği çalışmalardır. Dış kalite kontrol çalışmaları ise aynı ürün üzerinden farklı laboratuvarlar tarafından yürütülen analiz faaliyetinin istatistiksel olarak karşılaştırılarak kalitesinin ve doğruluğunun belirlenmesidir [3,4].

Üretim ve kalite kontrol analizlerinin doğruluğu ve kalitesi birçok etkene bağımlı olup yalnızca üretim tesisi ve/veya laboratuvar alt yapısına bağlı olmayıp daha çok laboratuvarda yürütülen işlemlerle ilişkilidir. Alt yapı olarak kullanılan donanımlardan özellikle ölçüm için kullanılan cihazlarda katı bir kalibrasyon sürecinin yönetilmesi gerekliliğini; ölçüm belirsizliği, analizcinin (analistin) tartım ve hesaplama gibi işlemlerdeki etkisi ön plana çıkmaktadır. Özellikle analizlerin doğruluğu bu basamaklardan daha çok etkilenmekte ve yürütülen faaliyetin kalitesi değişim gösterebilmektedir. Analizlerde kalite güvencesi ve kalite kontrolü, genellikle istatistiksel değerlendirme ile karşılaştırma yaparak güvence sağlar. İstatistiksel olarak elde edilen veriler, yapılan çalışmaların doğruluğunu teyit etmekle birlikte olumsuz bir duruma yönelik yapılacak düzeltici faaliyete yol gösterir. Elde edilen bu veriler ve yapılan iş ve işlemlerin doğruluğunun ispatlanması gerekliliği laboratuvarların akreditasyon sürecini ortaya çıkarmaktadır.

Akreditasyon, yürütülen test ve analiz faaliyetinin güvenilir olmasının sağlanabilmesi için analiz ve test faaliyetini yürüten kuruluşun yeterliliğinin uluslararası tanınmış ve yetkili bir kurum ve/veya kuruluş tarafından ulusal ve uluslararası standartlara göre değerlendirilmesi, onaylanması ve sonrasında denetlenmesi faaliyetidir. Başka bir ifadeyle, uygunluk değerlendirme kuruluşunun kapsamına yönelik uluslararası tanınmış kurum veya kuruluş tarafından değerlendirilerek yeterliliğinin belirlenmesi ile resmi tanınırlık kazanmasıdır. Bu resmi tanınırlık, bağımsız kurum veya kuruluşun yapacağı denetimle gerçekleşmekte ve temel olarak uygunluk değerlendirme kuruluşunun yetkinliği, tarafsızlığı, güvenilirliği ve bağımsızlığı tetkik edilir. Uygunluk değerlendirme kuruluşunun kapsamı ve uygulamış olduğu kalite sisteminin atıf ettiği standarda göre değerlendirilmesi esastır. Yürütülen faaliyetin kalitesi, sürekliliği, güvenliği ve başka laboratuvar veya ülkede yapılması durumunda da aynı sonucun alınmasını sağlamak için bağımsız bir kuruluş tarafından alınacak akreditasyon kararı önem arz eder. Söz konusu duruma yönelik alınan akreditasyon ile sürecin güvenilirliği belirlenerek tanınırlık sağlanmaktadır.

Genel olarak standart ve rutin analiz hizmetleri sunan laboratuvarlar için hizmet kalitesi odaklı laboratuvar faaliyetleri için TS EN ISO/IEC 17025, Ar-Ge veya üretim faaliyeti kapsamında resmi onaya sunulmak üzere yapılan laboratuvar faaliyetleri için İLU ile güven artışı sağlanarak kalite tesisi desteklenir. Akreditasyondaki hedeflerden biri de yapılan faaliyeti güvenilir hale getirmek, üretilen ve verilen hizmet çıktısının tekrarlanabilirliğini artırmak, uygunluk değerlendirme alt yapısı oluşturmaktır. Akreditasyon halihazırda gönüllülük esasıyla yürütülmekte ancak dünya ekonomisindeki eğilimler ve sürdürülebilirlik kapsamında sürekli artan rekabet, akreditasyonu ihtiyaç haline getirmektedir.

İç ve dış kalite kontrol

Analiz sonuçlarının kalitesini sağlamak için yürütülen üretim ve analiz faaliyetinin kalite güvence ve kalite kontrol prensipleri doğrultusunda iç kalite kontrol ve dış kalite kontrol çalışmaları ile sürekli izlenmesi gerekmektedir. İç kalite kontrol çalışmaları için sistem uygunluk parametreleri, şahit standart ile doğrulama, validasyon/geçerli kılma ve/veya verifikasyon/doğrulama, ölçümlerin izlenebilirliği uygulanmalı ve kalite güvencesi doğrultusunda kayıt altına alınmalıdır. Dış kalite kontrol çalışmalarında ise standartların belirlemiş olduğu en düşük zaman aralıklarında çalışmalara katılım sağlanmalıdır. Gerek iç gerekse dış kalite kontrol çalışmalarında elde edilen veriler istatistiksel olarak değerlendirilmeli ve elde edilen veriler yorumlanarak bütün analiz basamaklarına uygulanmalıdır. Kalite güvence çerçevesinde bu süreçlerin tamamı standart çalışma prosedürleri, ham veri kayıtları, izlenebilirlik kayıtları, şahit malzeme kayıtları, personelin yetkinlik ve eğitim kayıtları, kalibrasyon ve bakım kayıtları, yapılan iç ve dış kalite kontrol kayıtları, kalite kontrol kartları gibi dokümantasyon sistemi ile kayıt altına alınmalı ve yürütülen süreç basamak basamak tanımlanmalıdır.

Akreditasyon, belirli bir hizmeti verebilecek veya gereken işlemleri yapabilecek bir kurum, çalışma veya hizmet grubu veya kişinin; olanaklarının, yeteneğinin, nesnelliğinin, yetisi ve dürüstlüğünün yetkili kılınmış bir organ eli ile belgelendirilmesi olarak tanımlanır. Türk Dil Kurumu'na göre akreditasyon; kuruluşların, üçüncü bir tarafça belirlenen teknik ölçütlere göre çalıştığının bağımsız ve tarafsız bir kuruluş tarafından onaylanması ve düzenli aralıklarla denetlenmesi iken Türk Akreditasyon Kurumu-TÜRKAK ise akreditasyonu "laboratuvarların, muayene belgelendirme ve yeterlilik deneyi sağlayıcı kuruluşlarının ulusal ve uluslararası kabul görmüş teknik ölçütlere göre değerlendirilmesi, yeterliliğinin onaylanması ve düzenli aralıklarla denetlenmesidir" şeklinde tanımlar. Akredite kuruluş; uygunluk değerlendirmesinden sorumlu kuruluşça denetlenmiş ve denetleme sonucunda sorumlu kuruluşça verilen uygunluk belgesine sahip, akreditasyon kapsamında verdiği ürün veya hizmet için uygulanabilir olan gerekliliklerin sağlandığını teminat altına alındığı kuruluştur. Akreditasyon, ilgili ulusal ve uluslararası düzenlemeler bu alandaki ilgili kuruluşlara yönelik bir zorunluluk olmayıp tamamen gönüllülük esasına dayanmaktadır. Ancak hizmet talep eden kurum ve kuruluşlar ile ortam koşullarının talebine yönelik olarak birçok durumda akreditasyon sahip olunması gereken bir özellik haline gelmiştir [3-5].

İYİ LABORATUVAR UYGULAMALARI-İLU ve TS EN ISO/IEC 17025 KALİTE SİSTEMLERİ VE ARALARINDAKİ İLİŞKİ

TS EN ISO/IEC 17025

TS EN ISO/IEC 17025, deney ve kalibrasyon faaliyeti yürüten bir laboratuvarın kalite sistemini, bu sistemdeki asgari gereklilikleri tanımlar. Bu standart doğrultusunda akreditasyon hedefleyen veya akredite olmuş kuruluşlar Kalite Yönetim Sistemini – KYS kurmuş ve en az altı ay işletmiş olmalıdır.

Standarda göre verilen akreditasyon, deney veya kalibrasyon yöntemine özgüdür. Akreditasyon kapsamında bulunan yöntemler valide standart yöntemler olabileceği gibi laboratuvar tarafından geliştirilmiş yöntemler de olabilir. TS EN ISO/IEC 17025 standardı test ve kalibrasyon faaliyeti için önemli hususlardan olan tekrarlanabilirlik, izlenebilirlik, ölçüm belirsizliği, numune alma, hizmet talep eden tarafa yönelik hususlar, müşteriye hizmet, kalibrasyon gibi konuları içermektedir. TS EN ISO/IEC 17025, numune alma dahil, deney ve/veya kalibrasyon hizmeti veren bir laboratuvarın yeterliliğinin tanınması için gereken genel şartları kapsar. TS EN ISO/IEC 17025 standardı deney ve/veya kalibrasyon faaliyeti gösteren kurum veya kuruluşlara uygulanabilir ve bu standarda göre akreditasyon verilebilir [5-8].

İyi Laboratuvar Uygulamaları-İLU

İLU, Ekonomik Kalkınma ve İşbirliği Örgütü-EKİÖ tarafından ortaya konulan ve EKİÖ üyelerince kabul görmüş kalite sistemi üzerine spesifik dokümanlardan oluşur. Klinik çalışmalar dışında medikal, ilaç vb. alanlarda yürütülen faaliyetler ile ilgili planlama, gerçekleştirme, izleme, kaydetme, arşivleme ve raporlama işlemlerinin gerçekleştirildiği koşullarla ve organizasyonla ilgili bir kalite sistemidir. İLU klinik olmayan, farmasötik ürünler, kozmetik ürünler ile ilgili yapılan araştırma ve laboratuvar çalışmalarına uygulanabilir. Klinik amaçlı olmayan, yeni bir ilaç ya da etken madde geliştirme ile ilgili araştırmalar; yeni bir tıbbi cihaz ya da yeni bir donanımın uygunluğu çalışmalarını içerir. Genel olarak TS EN ISO/IEC 17025 ile temel düzeyde ayrım burada sağlanmaktadır. İLU, yapılan araştırma ve üretimin başlangıcından sonucuna kadar devam eden süreci ve elde edilen ürünün kullanımı ile doğacak sonuçları da kapsar. Bu işlemlerin genel çerçevede dokümantasyonu geniş bir protokol uygulanarak sağlanır, tanımlanır ve tanımlanan tüm işlemler planlanarak faaliyete geçilir. Faaliyet sürecinde tüm çalışmalar periyodik olarak izlenerek standart çalışma prosedürüne uygun olarak gerçekleştirilir. İLU bilimsel araştırmalarda kullanıldığı gibi resmi onay gerektiren ürün araştırma ve geliştirmelerinde güvenilir ve tekrarlanabilir çıktı elde edilmesi gereken kalite güvence sistemlerinde de uygulanabilir. Çünkü yürütülen faaliyetlerin toksikolojik ve çevresel yönden büyük etkileri olması sebebiyle bu hususların da dikkate alınması önemlidir. İLU ile kuruluş veya laboratuvar yürüttüğü çalışma ile ilgili süreç, personel, donanım, kayıt yöntemlerini tanımlar, testi yapacak personelin yetkinliğini izler, uygun eğitimler ile gelişimini sağlar. Kuruluş, yapılan laboratuvar faaliyetleri için standart analiz yöntemleri, test örneği alım sıklıkları ve örnek alma yöntemleri ile uygun cihaz alt yapısı oluşturarak test sonuçlarının güvenilirliğini, muhafazası ve kaydını sağlayacak kalite yönetim sistemini oluşturmalıdır [3,4,7].

EKİÖ, Kuzey ve Güney Amerika, Avrupa ve Asya ve Pasifik bölgesindeki otuz beş sanayileşmiş ülkenin temsilcilerinin ve yanı sıra Avrupa Komisyonu'nun, politikaları eşgüdümlü ve uyumlu hale getirmek, karşılıklı endişe konusu olan konuları tartışmak ve uluslararası sorunlara cevap vermek için birlikte çalışmak amacıyla bir araya geldiği devletlerarası bir organizasyondur. Uluslararası

uyumlaştırılmış İLU ilkeleri EKİÖ tarafından düzenlenmiş ve 1981 yılında yayınlanmıştır. İLU ve TS EN ISO/IEC 17025 arasındaki "Uyumluluk ve Uygunluk" çerçevesinin sağlıklı bir karşılaştırmasının yapılabilmesi için her ikisinin tarihi kökenleri ve amaçları göz önünde bulundurulmalıdır. Bu bağlamda İLU uygunluk izlemesi ve laboratuvar akreditasyonu arasındaki geniş farkların ortaya konulmasını ve kısa bir karşılaştırmasına yönelik çalışmalar önem arz etmektedir.

Birçok ülkede, İLU uygunluğu bir düzenleyici kontrol mekanizması olarak kanunlarda yer almaktadır. İLU İlkeleri düzenleyici mekanizmadan doğmuş ve sürecin ayrılmaz bir parçası olarak gelişmiştir. Öte yandan, TS EN ISO/IEC 17025, düzenleyici otorite tarafından değil, laboratuvar akreditasyon topluluğu tarafından geliştirilmiştir. İlk olarak 1978 yılında *ISO Guide 25* olarak yayınlanmıştır. Laboratuvarların teknik yetkinliklerini kanıtlayabilmeleri için yerine getirmeleri gereken karşılıklı tanınmış ölçütler manzumesidir. TS EN ISO/IEC 17025 ilk olarak 1999 yılında yayınlanmış, 2005 ve 2017 yıllarında güncellenmiştir. İLU ilkeleri'nin aksine, TS EN ISO/IEC 17025 laboratuvarların uygulamayı tercih edebileceği ya da düzenleyici ve belirleyici otoritelerin şart koşabileceği uluslararası bir standarttır [7].

İLU ilkeleri, üretim faaliyetinde kullanılacak hammaddeler, kimyasallar ve famasötikler gibi ürünler ve bu ürünlerin ilgili maddelerinin üretim lisansı kapsamında düzenleyici otoritelere sunulmak üzere gerçekleştirilen klinik dışı sağlık ve çevre güvenlik deneyleri için oluşturulduğundani kullanım amacına yönelik oldukça spesifik bir kalite yönetim sistemi olup belirlenmiş alanlar dışındaki test ve analiz faaliyetlerine yönelik kullanımı gerekli değildir ve belirlenmiş alanlar dışına kullanım için tasarlanmamıştır. İLU kapsamında yürütülecek klinik çalışmalar dışındaki, farmasötik alan gibi, sağlık alanındaki deneyler ve analizler bilimsel açıdan multidisiplinerdir. Yürütülen bir çalışma uzun bir periyoda yayılabilmekte ve faaliyet gösterilen alanın yanında birçok faklı disiplin çalışmaya katılabilmektedir. Özellikle famasötik ürünlerin üretiminde dahil olan her disiplin/branş ile yeni bir kimyasal çalışmaya dahil olmaktadır. Bu bağlamda faaliyet gösterilen alana yeni disiplinlerin dahil olması çalışmaların her basamağındaki analizler/çalışmalar için farklılık gösterecektir. Bunun yanında, klinik alan dışında yürütülen medikal ve farmasötik alan gibi sağlık alanındaki test ve analizler; geleneksel laboratuvar düzeninin dışında da yürütülebilir, laboratuvar dışında (sera ve saha) yürütülen çalışmalar bu duruma örnektir. Bu tür durumlar neticesinde İLU gereklilikleri geleneksel laboratuvar gerekliliklerinin yanı sıra çok çeşitli çalışmalara hitap edebilmektedir. Farklı çalışmalar ve bu çalışmalara, araştırma sürecinde dahil olan farklı disiplinler ve bu çalışmalarda kullanılan farklı madde ve malzemelerin kullanılmasına olanak sağlamaktadır. Bu hususlar farmasötikler ve kozmetik ürünleri olduğu kadar veteriner ilaçları ve endüstriyel kimyasalları da içerebilir.

İLU gerekliliklerinin temeli yürütülen araştırma, analiz ve üretim faaliyetinin özgün olmasıdır. Faaliyet; test edilen materyalin, laboratuvar koşullarında spesifikasyonlarının ve bu spesifikasyonlar ışığında uygunluğunun (güvenilirliğinin), bir otoriteye sunulmak üzere belirlenmesi için yapılan analiz ve deney işlemidir. TS EN ISO/IEC 17025 deney ve kalibrasyon faaliyetlerini yürüten laboratuvarlara

yönelik oluşturulmuş olan gerek teknik gerekse yönetim sisteminin tanımlandığı bir standardıdır. Bu bağlamda, TS EN ISO/IEC 17025 klinik dışı laboratuvarları da içeren geniş bir alanda faaliyet gösteren farklı laboratuvarlar için uygulanabilir. Bu laboratuvarlar, numunede uygulanan deney yöntemi ile zaman içinde çok fazla değişkenlik göstermeyen analizler gerçekleştirirler. Bunun yanında standart olmayan, yeni bir deney faaliyeti gerçekleştiren laboratuvarlar da bu standardı uygulayabilmektedir. TS EN ISO/IEC 17025`in temeli, laboratuvarda yürütülen faaliyette gerek teknik gerekse yönetim anlamında laboratuvarın vermiş olduğu hizmetin nasıl verildiğine yönelik önemli girdileri sağlayan ve destekleyen yetkinlik ve sistemler üzerine kuruludur. Üretilen kimyasal/biyolojik/biyoteknolojik/bitkisel/doğal kaynaklı bir ürünün fizikikokimyasal özelliklerini belirlemek amacıyla yapılan testler buna örnektir. Ancak TS EN ISO/IEC 17025'e göre gerçekleştirilen deney faaliyeti sonucunda elde edilen çıktılar istenildiği gibi olsa da İLU gerekliliklerini karşılamayabilmektedir. Bu da yürütülen faaliyette İLU gerekliliklerini sağlamak için ekstra zaman ve çaba harcanmasına sebep olmaktadır. Bu durumun nedeni ise bazı bölgesel düzenleyici otoriteler tarafından, yürütülen deney ve analiz faaliyetini İLU gerekliklerine göre düzenlemelerini talep edebilmeleridir. Söz konusu düzenleyici otoriteler bunun yanında yürütülen faaliyetin Ulusal İLU İzleme Otoritesi tarafından denetlenmesini de talep edebilmektedir. Klinik dışı sağlık ve çevre güvenliği deneylerinin büyük çoğunluğu için İLU ilkeleri en uygun seçenektir. Çünkü yürütülecek bu tarz bir çalışmanın çeşitlilik göstermesi, yürütülen faaliyetin birçok disiplinden beslenmesi ve her bir çalışmada test edilen materyalin farklılık göstermesi gibi hususlardan kaynaklanmaktadır. İLU ilkeleri bahsedilen bu farklılık ve çeşitliliğe olanak sağlayacak şekilde özel olarak oluşturulmuştur. Bunun yanında İLU ilkeleri ve TS EN ISO/IEC 17025 standardı farklılıkları yönünden birbirlerini tamamlayıcı olarak nitelendirilebilir. İLU İlkeleri, Kalite Yönetim Sistemi ve yürütülen faaliyetin tüm aşamalarındaki sorumluluğa sahip olan yöneticiye esas oldukça özel şartlara sahip iken TS EN ISO/IEC 17025, İLU kapsamına girmeyen bazı hususları da tanımlamaktadır. Laboratuvarlarda belirlenmiş alan dışında kalan test hizmeti talep eden tarafa/müşteriye yönelik şartlar, bu hususta iyi hizmet vermek adına yapılacak olan iyileştirmeler, bunun yanında iç kalite kontrol ve yeterlilik alanında yapılacak olan iyileştirmeler gibi farklı unsurlara odaklanmaktadır [7-9].

SONUÇ

TS EN ISO/IEC 17025 standardı ve İLU ilkeleri/prensipleri arasında benzerlikler, farklılıklar, birbiriyle örtüşen noktalar ve her iki sistem için de bazı spesifik konular vardır. Adı geçen kalite sistemleri ile düzenlenecek sistemlerde; iki kalite sisteminin amacı da fizikokimyasal, analitik ve mikrobiyolojik testlerde veri kalitesini sağlamaktır. TS EN ISO/IEC 17025 standardında hedef hizmetin kalitesi ve hizmetin sunulduğu tarafın güveni (müşteri güveni) iken, İLU prensiplerine göre hedef; insan ve çevre sağlığını gözetmek, üretim kalitesi ve tekrarlanabilirliğini sağlamaktır. Bu nedenle TS EN ISO/IEC 17025 standardının hedef grubu hizmet sağlanan taraf/müşteri iken İLU gerekliliklerinde hedef, düzenleyici ve denetleyici kurumların onay süreçleri olmaktadır. TS EN ISO/IEC 17025

standardında temel etken fiziksel ve analitik ölçümler ile test veya kalibrasyon hizmetinin verilmesi iken İLU prensiplerinde ise ürünlerin ruhsatlandırılması ve lisanslanmasında gereken bilgiler için yürütülen çalışmalar ve klinik dışı biyolojik sistemler ile yapılan çalışmalardaki ölçütleri içermekte ve güvenilirlik çalışmalarını kontrol altında tutmaktadır. TS EN ISO/IEC 17025 sisteminde faaliyet gösteren laboratuvarlar genellikle farmasötik ve medikal kalite kontrol laboratuvarları, mühendislik laboratuvarları, saf madde analiz laboratuvarları ve çevre izleme test laboratuvarlarıdır. İLU prensiplerine göre faaliyet gösteren laboratuvarlar ise yeni bir ilaç etken maddesi vs. geliştirme araştırmaları, farmasötik ürünlerin ruhsatlandırılması araştırmaları, yeni bir tıbbi cihazın uygunluk araştırmaları ve çevre kirliliği izleme çalışmaları yapan laboratuvarlardır. Bu bilgiler ışığında TS EN ISO/IEC 17025 sistemine göre faaliyet gösteren laboratuvarlar yapılan test ve kalibrasyon hizmetinin güvencesi odaklı olup, İLU prensiplerine göre faaliyet gösteren laboratuvarlarda yürütülen faaliyet bir araştırma ve Ar-Ge çalışması olduğundan araştırmanın bütün yönlerine hitap etmektedir. Temel olarak TS EN ISO/IEC 17025 ve İLU prensipleri çoğunlukla örtüşmekte olup TS EN ISO/IEC 17025 analitik konularda İLU'ya göre daha fazla detaylı bilgi barındırmaktadır.

KAYNAKÇA

[1] İzgü E. İyi İmalat ve Kontrol Uygulama Kuralları. Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları. 1988; 61: 11-13.

[2] Schwarb L. Good Laboratory Practice Training Manual. World Health Organization on behalf of the special programme for research and training in tropical diseases. 2008, 6-9.

[3] Tiryaki O, Temur C. Pestisit kalıntı analizlerinde kalite sistemleri: ISO 17025 ve OECD-GLP. Erciyes Üniv. Fen Bil Ens Dergisi, 2012; 28(4): 270-279.

[4] Weinberg S. Good laboratory practice regulations. Marcel Dekker, Third Edition. 2008: 35-40.

[5] Geven A, Özcan S, Can NÖ. TS EN ISO/IEC 17025 Deney ve kalibrasyon laboratuvarlarının yeterliliği için genel şartların incelenmesi. Türk Farmakope Dergisi 2019; 4(2): 64-82.

[6] Çevre Bakanlığı, R.G. Tarihi: 25.06.2002 R.G. Sayısı:24796, İyi Laboratuvar Uygulamaları Prensipleri ve Test Laboratuvarlarının Belgelendirilmesine Dair Yönetmelik, 2002.

[7] OECD İLU İlkeleri ve ISO/IEC 17025 arasindaki ilişki konulu OECD Pozisyon Belgesi, 2017.

[8] OECD Series on principles of Good Laboratory Practice (GLP) and compliance monitoring. ENV/MC/CHEM(98)17, 1998. 10 Temmuz 2020 tarihinde http://www.oecd.org/chemicalsafety/testing/oecdseriesonprinciplesofgoodlaboratorypracticeglpandcompliancemonitoring.htm adresinden erişildi.

[9] TS EN ISO/IEC 17025 Deney ve kalibrasyon laboratuvarlarının yeterliliği için genel şartlar, 2017.

T.C. SAĞLIK BAKANLIĞI
TÜRKİYE İLAÇ VE TIBBİ CİHAZ KURUMU

DERLEME MAKALESİ

Türk Farmakope Dergisi 2020, 5(3): 102-111
© Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu 2020

AKREDİTE DENEY LABORATUVARLARI EKİPMANLARI İÇİN METROLOJİK GEREKSİNİMLERE GENEL BİR BAKIŞ

Serhat ALADAĞ, Evren ALĞIN YAPAR*

T.C. Sağlık Bakanlığı, Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu, Analiz ve Kontrol Laboratuvarları Dairesi Başkanlığı, 06430, Sıhhiye-Ankara.

elmek*: evren.yapar@yahoo.com

Geliş tarihi: 19.08.2020 / Kabul tarihi: 31.08.2020

ÖZET

Deney faaliyetlerinin yürütüldüğü laboratuvarlar, uluslararası karşılıklı tanıma anlaşmaları aracılığıyla izlenebilirlik zincirini tamamlayan akreditasyon kuruluşlarınca akredite edilirler. Ülkemizde uygunluk değerlendirme faaliyetlerini akredite etmekle yetkili ulusal akreditasyon mercii Türk Akreditasyon Kurumu olup Avrupa Akreditasyon Birliği, Uluslararası Akreditasyon Forumu ve Uluslararası Laboratuvar Akreditasyon Birliği ile karşılıklı tanıma ve çok taraflı tanıma anlaşmalarına sahiptir. Ülkemizde bölgesel veya uluslararası standart kuruluşlarınca yayınlanan standartlar, Türk Standartları Enstitüsü-TSE tarafından dilimize çevrilerek yayınlanmaktadır. Deney, kalibrasyon, muayene gibi alanlarda akreditasyon; parametre bazlı ve belirli bir Kalite Yönetim Sistemi standardı doğrultusunda tescil edilmektedir. Deney ve kalibrasyon alanında hizmet veren laboratuvarların bu alanda rehber aldığı yönetim sistemi ağırlıklı olarak *TS EN ISO/IEC 17025:2017 Deney ve Kalibrasyon Laboratuvarlarının Yetkinliği İçin Genel Gereklilikler* standardıdır. Bu kalite yönetim sistemi standardının yayınlandığı 1999 yılından bu yana standart içeriğinde “metrolojik izlenebilirlik” ve ”donanım performansı” hususları her zaman var olmuştur. Bu derlemede akredite deney laboratuvarlarının gerçekleştirdiği deney faaliyetlerinde göz önünde bulundurması gereken metrolojik gereksinimlere TS EN ISO/IEC17025:2017 standardı doğrultusunda genel bir bakış sunulacaktır.

Anahtar kelimeler: Akreditasyon, Deney laboratuvarları, Metroloji, Kalibrasyon, TS EN ISO/IEC17025, Kalite yönetim sistemi.

AN OVERVIEW OF METROLOGICAL REQUIREMENTS FOR ACCREDITED TESTING LABORATORIES EQUIPMENTS

ABSTRACT

Laboratories in which experimental activities are carried out are accredited by accreditation bodies that complete the traceability chain through international mutual recognition agreements. The national accreditation authority authorized to accredit conformity assessment activities in our country is the Turkish Accreditation Agency and has mutual recognition and multilateral recognition agreements with the European Accreditation Association, the International Accreditation Forum and the International Laboratory Accreditation Cooperation. Standards published by regional or international standard organizations in our country are translated and published by the Turkish Standards Institute-TSI. Accreditation in areas such as testing, calibration and inspection is registered on a parameter basis and in line with a specific quality management system standard. The management system guided by laboratories serving in the field of testing and calibration is mainly *ISO/IEC 17025:2017 General Requirements for the Competence of Test and Calibration Laboratories*. Since 1999, when this quality management system standard was published, "metrological traceability" and "equipment performance" issues have always existed in the content of the standard. In this review, an overview of the metrological requirements that accredited test laboratories should take into account in their test activities will be presented in line with the ISO/IEC 17025:2017 standard.

Keywords: Accreditation, Testing laboratories, Metrology, Calibration, ISO 17025, Quality management system.

GİRİŞ

1. DENEY LABORATUVARLARININ AKREDİTASYONU

Akreditasyon, 03.11.2017 tarih ve 30229 sayılı Resmî Gazete'de yayınlanan "Uygunluk Değerlendirme Kuruluşlarının Akreditasyonu Hakkında Yönetmelik"te *"TÜRKAK tarafından; laboratuvar, muayene, belgelendirme kuruluşu ve diğer uygunluk değerlendirme kuruluşlarının ulusal ve uluslararası kabul görmüş teknik kriterlere göre yeterliliğinin değerlendirilmesi, onaylanması ve düzenli aralıklarla denetlenmesi*" olarak tanımlanmıştır.

Akreditasyon, otoriteler tarafından talep edilmedikçe ve mevzuatlarda belirtilmediği sürece gönüllülük esasına bağlıdır. Ancak, ürün/hizmet talep eden tarafların kalite beklentisi ve ulusal/uluslararası rekabetçi piyasa koşulları akreditasyonu faydalı kılmaktadır. Akreditasyon, ticari kuruluşların ürün/hizmetlerini uluslararası piyasada serbest dolaşımını sağlamak [1] ve ürün/hizmet kalitelerinin uluslararası tanınırlığını sağlamak amacıyla tercih edilebilmektedir.

03.11.2017 tarih ve 30229 sayılı Resmî Gazete'de yayınlanan "Uygunluk Değerlendirme Kuruluşlarının Akreditasyonu Hakkında Yönetmelik"te deney laboratuvarları, tıbbi laboratuvarlar, kalibrasyon laboratuvarları, muayene kuruluşları, sistem belgelendirme kuruluşları, ürün/hizmet belgelendirme kuruluşları, personel belgelendirme kuruluşları, yeterlilik deneyi sağlayıcıları, referans malzeme üreten kuruluşlar ve doğrulayıcı kuruluşların akredite edilebilecek kapsamda yer aldığı görülmektedir.

Bu derlemede deney laboratuvarlarının akreditasyonu halinde göz önünde bulundurulması gereken "metrolojik izlenebilirlik" ve "donanım performansı" kuralları genel bir yaklaşımla incelenecektir.

2. TS EN ISO/IEC 17025:2017 DONANIM GEREKLİLİKLERİ

TS EN ISO/IEC 17025 Deney ve Kalibrasyon Laboratuvarlarının Yeterliliği İçin Genel Şartlar standardının temel amacı, laboratuvarların güvenilir sonuç üretebilmesi için gereklilikleri tanımlamak, laboratuvar çalışmalarının yetkin bir şekilde gerçekleştiğini ispat edebilmek ve ülkeler arası sonuçların kabul edilebilirliğini kolaylaştırmaktır [2]. Laboratuvarlar için bir Kalite Yönetim Sistemi (KYS) standardı olan TS EN ISO/IEC 17025, 2017 yılında orijinal standardın tadili doğrultusunda güncellenerek yeniden yayınlanmıştır. Yeni revizyonla birlikte standart yapısı 17000 serisi diğer standartlarla aynılaştırılarak gizlilik ve tarafsızlık ile müşteri geri bildirimlerine vurgu yapılmış, risk ve fırsatların ele alınması, karar kuralı, laboratuvar bilgi yönetim sistemleri, dokümantasyon sisteminin esnekliği, alternatif yönetim sistemlerinin sunulması ve bazı terimlere (gizlilik, tarafsızlık, şikayetler, metrolojik izlenebilirlik, doğrulama, geçerli kılma, karar kuralı, laboratuvar içi karşılaştırma, laboratuvarlararası karşılaştırma, yeterlilik deneyi vb.) açıklık getirilerek terminoloji netleştirilmiştir. Ancak, standardın ISO tarafından yayınlanan 1. baskısından itibaren "metrolojik izlenebilirlik" ve "donanım performansı" hususları mevcudiyetini korumuştur. Güvenilir sonuçlar üretebilmenin temel şartlarından olan müşteri tarafından talep edilen hizmetin ifası için gereklilikler ile donanımın ölçüm kabiliyeti ve doğruluğundan TS EN ISO/IEC 17025 standardında sıklıkla bahsedilmektedir [3].

TS EN ISO/IEC 17025 standardına dayalı KYS işleten laboratuvarlar, standart gerekliliklerini yerine getirmekle yükümlüdür. Laboratuvarın sahip olması gereken donanımlara ilişkin gereklilikler standartta altıncı maddede "Kaynak Gereklilikleri" başlığı altında "Laboratuvar, hizmet sunduğu alanda yetkin ve yeterli personele, tesislere, donanımlara, sistemlere ve destek hizmetlerine sahip olmalıdır." yaklaşımı ile verilmiştir. Donanımlara ilişkin detaylı gereksinimlere ise "Donanım" başlığı altında yer verilmiştir. Standarda göre;

- Donanımın uygun çalışması, kontamine olması ve bozulmasının önlenmesi için prosedüre sahip olunmalıdır.
- Donanım ilk defa hizmete alınacaksa veya tekrar kullanıma alınacaksa gerekliliklere uygunluğu doğrulanmalıdır.

- Donanım; ölçüm için gerekli ölçüm doğruluğunu ve/veya ölçüm belirsizliğini elde edebilmelidir.
- Donanım; sonuçların geçerliliği etkilendiğinde veya metrolojik izlenebilirlik gerektiğinde kalibre edilmelidir.
- Laboratuvar; kalibrasyonların geçerliliğini korumak üzere kalibrasyon programına sahip olmalıdır.
- Kalibrasyon gerektiren veya tanımlanmış bir kalibrasyon süresine sahip olan tüm donanımlar kullanıcıları tarafından tanınabilmek üzere etiketlenmeli, kodlanmalı veya tanımlanmalıdır.
- Donanım; hatalı kullanıldıysa, aşırı yüklemeye maruz kaldıysa, şüpheli sonuçlar verdiyse, gerekliliklerin dışında kaldıysa kullanım dışı bırakılmalıdır. Donanım, performansı doğrulanana kadar hizmet dışı bırakılarak etiketlenmeli ve ayrılmalıdır. Tespit edilen hatanın kaplamı üzerinde inceleme yapılmalı gerekli ise uygun olmayan hizmetin gereklilikleri uygulanmalıdır.
- Donanım performansının sürekliliği için ara kontroller yapılmalıdır.
- Kalibrasyon veya referans malzeme verilerinde düzeltme faktörü kullanılıyorsa güncel tutulmalı, gerektiğinde revize edilmelidir.
- Donanım ayarlarında sonuçları değiştirebilecek müdahalelerin yapılması önlenmelidir.
- Donanıma ilişkin kayıtlar muhafaza edilmelidir:
  - ❖ Ürün adı
  - ❖ Üreticinin adı, seri numarası ve ayrıştırıcı bilgileri
  - ❖ Lokasyonu
  - ❖ Kalibrasyon tarihi, kalibrasyon sonuçları, ayarlamaları, kabul kriterleri, son kalibrasyon tarihi ve kalibrasyon periyodu
  - ❖ Bakım-onarım kayıtları

3. LABORATUVAR DONANIM PERFORMANSININ ÖLÇÜLMESİ VE UYGUNLUĞU

TS EN ISO/IEC 17025 standardı doğrultusunda; müşteri tarafından talep edilen deney hizmetine ilişkin gereklilikler ile laboratuvar envanterinde kayıtlı donanımın ölçüm aralığı, hassasiyeti ve ölçme kabiliyeti uyumlu olmalıdır [4-6]. Analizde kullanılacak ekipmanın müşteri talebi ile uyumlu olmasıyla birlikte ekipman üreticisinin teknik spesifikasyonları ve kabul kriterleri doğrultusunda performansının kanıtlanmış olması gerekmektedir. Donanımlara ilişkin performans ölçüm yöntemlerinde; kullanıcı ihtiyaçları, üretici spesifikasyonları ve ulusal/uluslararası rehberler/kılavuzlar kullanılabilmektedir. Donanımların performanslarının ölçülmesi sonrasında uygunluk değerlendirmesi “kabul kriterleri (hata toleransı)” doğrultusunda yapılmaktadır [7]. Kabul kriterleri; müşteri tarafından talep edilen analiz yönteminde yer alan ekipman gereklilikleri, cihaz üreticisi spesifikasyonları ve kullanıcı talepleri doğrultusunda belirlenebilmektedir. Bazı Kurum/Kuruluşlar tarafından yayınlanan performans ölçüm yöntemleri Tablo 1’de yer almaktadır.

Tablo 1. Bazı laboratuvar ekipmanlarına ait performans ölçüm yöntemleri [8-24].

Laboratuvar Ekipmanı	Yayıncı Kuruluş	Yöntem
Sıvı Kromatografisi Cihazı	• Avrupa İlaç Kalite ve Sağlık Hizmetleri Direktörlüğü (European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare - EDQM)	[8]
Gaz Kromotografisi Cihazı	• EDQM	[9]
UV Spektrofotometre	• EDQM • Amerikan Test ve Materyal Topluluğu (American Society for Testing and Materials - ASTM)	[10] [11]
IR Spektrofotometre	• EDQM	[12]
Otomatik Titratörler	• EDQM	[13]
Pistonlu Pipetler	• EDQM • Uluslararası Standardizasyon Kuruluşu (International Standards Organization - ISO)	[14] [15]
Kütle Spektrometresi	• EDQM	[16]
Teraziler	• EDQM • Uluslararası Yasal Metroloji Teşkilatı (Organisation Internationale de Métrologie Légale - OIML) • Avrupa Ulusal Metroloji Enstitüleri Birliği (European Association of National Metrology Institutes - EURAMET)	[17] [18] [19]
pH Metre	• EDQM	[20]
Atomik Absorpsiyon / Emisyon Spektrometresi	• EDQM	[21]
Analitik Kolonlar	• EDQM	[22]
Kütle Seti – Etalonlar	• OIML	[23]
Isıl Çiftler	• Uluslararası Elektroteknik Komisyonu (International Electrotechnical Commission - IEC)	[24]

Laboratuvar donanımlarına ilişkin performansların ölçülmesi ve uygunluk durumuna karar verilmesinin akabinde önceden belirlenmiş periyotlar dahilinde ölçümleme hizmeti tekrar edilmeli ve gerekli ise ara kontrolleri yapılmalıdır. Ölçümleme periyodunun ilk kez belirlenmesinde;

- Cihaz üreticisinin önerileri,
- Öngörülen kullanım alanı ve derecesi,
- Çevresel etkiler,
- Ölçümde gereken belirsizlik,
- Müsaade edilen maksimum hata,
- Cihazın ayarlanması (veya cihazdaki değişiklikler),
- Ölçülen büyüklüğün etkisi;
- Aynı veya benzer cihazlar hakkında bir araya getirilen veya yayımlanan veriler kullanılabilmektedir [25].

Performans ölçümleme periyotlarının belirlenmesi sonrasında; periyotlar belirli aralıklarla gözden geçirilmelidir. Aralıkları gözden geçirmek için merdiven sistemi, kontrol çizelgesi, kullanım süresi, kara kutu testi ve diğer istatistiksel yöntemler kullanılabilmektedir. Seçilen yöntem, aşağıdaki durumlara göre değişiklik gösterir [25]:

- Cihazların tek tek veya grup halinde işlem görmesi (örneğin, üretici modeli veya türüne göre),
- Cihazların zaman içinde veya kullanım sonucunda ulaşılan sapmanın hata toleransını aşması,
- Cihazların farklı şekilde kararsızlıklar sergilemesi,
- Cihazların ayarlamaya tabi tutulmuş olması,
- Kalibrasyon tarihçesine ait verilerin mevcut olması.

4. METROLOJİK İZLENEBİLİRLİĞİN SAĞLANMASI

Metrolojik izlenebilirlik ISO/IEC Kılavuz 99'da *"bir ölçüm sonucunun, her biri ölçüm belirsizliğine katkıda bulunan kalibrasyonlardan oluşan dokümante edilmiş kesintisiz bir kalibrasyon zinciri vasıtasıyla belirli bir referansa ilişkilendirilebilme özelliği"* olarak tanımlanmıştır. TS EN ISO/IEC 17025:2017 standardının "6.5. Metrolojik İzlenebilirlik" maddesi ve Ek-A'sında; *"laboratuvar, ölçüm sonuçlarının izlenebilirliğini kesintisiz kalibrasyon zinciri ile bir referansa dayandırmalıdır ve ölçüm sonuçlarının Uluslararası Birimler Sistemi (Système Internationale-SI) doğrultusunda izlenebilir olması güvence altına alınmalıdır"* ifadeleri yer almaktadır. Laboratuvar, ölçüm

sonuçlarının izlenebilirliğini kesintisiz kalibrasyon zinciri ile bir referansa dayandırmalıdır. TS EN ISO/IEC 17025 standardının altıncı maddesinde ve Ek-A'sında "Metrolojik İzlenebilirlik" yaklaşımı detaylandırılmıştır.

Laboratuvar; yetkin bir kalibrasyon laboratuvarından hizmet alınması, SI sisteme göre yetkin bir laboratuvarca ölçüm belirsizliği beyan edilmiş referans madde kullanılması ve SI birimler ile izlenebilirliğin ulusal veya uluslararası standartlarla karşılaştırılması yollarıyla metrolojik izlenebilirliği güvence altına alabilmektedir. SI birimler ile izlenebilirliğin teknik olarak mümkün olmaması durumunda uygun bir referans ile metrolojik izlenebilirlik sağlanmalıdır. Laboratuvarlar aşağıdaki sıralanan yöntemlerle metrolojik izlenebilirliğin sağlandığını gösterebilmelidir:

a) Ulusal metroloji enstitüleri ve belirlenmiş enstitüler tarafından Uluslararası Ağırlıklar ve Ölçüler Komitesi Karşılıklı Tanıma Düzenlemesi (Comité international des poids et mesures Mutual Recognition - Mutual Recognition Arrangement / CIPM-MRA) doğrultusunda yapılan emsal değerlendirmeleri ile sağlanabilir. CIPM-MRA kapsamında yer alan hizmetler, ölçüm aralığı ve belirsizliği Uluslararası Ağırlıklar ve Ölçüler Bürosu Anahtar Karşılaştırma Veritabanı (Bureau international des poids et mesures – Key comparison database / BIPM-KCDB) Ek C'sinde yer almaktadır.

b) Uluslararası Laboratuvar Akreditasyon Birliği (International Laboratory Accreditation Cooperation – ILAC) veya ILAC tarafından tanınan bölgesel düzenlemelere tabi tutulan bir akreditasyon kuruluşunca parametre bazında akredite edilmiş kuruluşlar metrolojik izlenebilirliğin sağlandığını göstermiş olur.

Metrolojik izlenebilirliğin uluslararası kabul edilebilirliği gösterilmek istendiğinde BIPM, OIML, ILAC ve ISO'nun Metrolojik İzlenebilirlik Üzerine Ortak Beyanı rehberlik sağlamaktadır [26-29].

SONUÇ

Akredite deney laboratuvarları, akredite kapsamda vermiş oldukları hizmetlerde TS EN ISO/IEC 17025:2017 KYS standardı gerekliliklerini uygulamakla yükümlüdürler. Standart gerekliliklerinin uygulanması hususunda metodolojiler asgari gereklilikleri karşılamalıdır. Laboratuvarlarda görevli yöneticiler, analizciler, yardımcı personeller ile destek hizmetleri personelleri standart gerekliliklerini benimsemeli ve saha çalışmalarında gerçek zamanlı olarak rutin uygulamalara yansıtmalıdır.

Laboratuvar donanımları üretim öncesinde, üretim bandında ve üretim sonrasında performans ölçümleme hizmetleri ile doğrulukları kontrol edilmeye muhtaç sistemler olup; bu sistemler sonuçların geçerliliğini etkileyen değişkenler arasında yer almaktadır. Performans ölçümleme hizmetine konu olan performans parametreleri, kabul kriterleri (hata toleransı), ölçüm belirsizliğinin hesaba katılarak uygunluk değerlendirmesinin yapılması, ölçümleme periyotlarının belirlenmesi ve metrolojik

izlenebilirliğin kontrolü laboratuvarın ve bilhassa cihaz kullanıcısının sorumlulukları arasındadır.

Laboratuvarlar, akreditasyon kapsamında kullanılan donanımlar için ölçümleme hizmetini dışarıdan tedarik edecekse; ölçümleme hizmetine ilişkin ölçüm talep edilen parametreler, ölçüm noktaları, ölçüm aralığı, kabul kriteri (hata toleransı), ölçüm belirsizliği gereklilikleri, referans donanım özellikleri, uygunluk beyanı talebi, alt yüklenici kullanımı, performans ölçüm raporu ve etiket özelliklerini teknik şartnameler/sözleşmeler ile belirlemelidir.

Laboratuvarlar, personellerinin kalifikasyonunu donanım gereklilikleri ve metrolojik izlenebilirliğin sağlanması/kontrolü alanında artırmalı ve sürekli kontrolünü sağlamalıdır. Bu alanda eğitim hizmetinin tesisini takiben iç tetkikler ile risk ve fırsatların ele alınması faaliyetleri kapsamında sürekli gelişim ve değişimi izlenmelidir. Laboratuvarlar tarafından donanım gereklilikleri ve metrolojik izlenebilirlik alanında kullanılan referans kaynakların güncelliği takip edilerek ilgili kaynaklarda güncelleme olması halinde ek gereklilikler yerine getirilmelidir.

KAYNAKÇA

[1] Malların Serbest Dolaşımı. 14.08.2020 tarihinde https://www.ab.gov.tr/1-mallarin-serbest-dolasimi_66.html adresinden erişildi.

[2] Geven A, Özcan S, Can NÖ. TS EN ISO/IEC 17025 Deney ve Kalibrasyon Laboratuvarlarının Yeterliliği İçin Genel Şartların İncelenmesi. Türk Farmakope Dergisi. 2019; 4(2): 64-82.

[3] TS EN ISO/IEC 17025:2017 Deney ve kalibrasyon laboratuvarlarının yetkinliği için genel gereklilikler. 18.08.2020 tarihinde https://intweb.tse.org.tr adresinden erişildi.

[4] Tsimillis K, Michael S. Metrological Requirements for Accredited Laboratories. 17th International Congress of Metrology, 2015, Paris, 06001:1-3.

[5] Beckert SF. Critical Analysis of Calibration and Measurement Capabilities (CMC) Presented in Accreditation Scopes. XXII World Congress of the International Measurement Confederation, 2018, UK, Journal of Physics: Conf. Series 1065 022002.

[6] Cuadros-Rodr|èguez L, Gaèmiz-Gracia L, Almansa-Loèpez EM, Bosque-Sendra JM. Calibration in Chemical Measurement Processes. Trends in Analytical Chemistry. 2001; 20(11): 620-636.

[7] Losada-Urzáiz F, González-Gaya C, Sebastián M. Metrological Regulations for Quality Control Equipment Calibration in Pharmaceutical Industry. Procedia Engineering. 2015; 132: 811-815.

[8] The European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare (EDQM) - Qualification

of Equipment Annex 1: Qualification of Liquid Chromatography Equipment. 13.08.2020 tarihinde https://www.edqm.eu/en/quality-management-qm-documents adresinden erişildi.

[9] The European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare (EDQM) - Qualification of Equipment Annex 2: Qualification of GC Equipment. 13.08.2020 tarihinde https://www.edqm.eu/en/quality-management-qm-documents adresinden erişildi.

[10] The European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare (EDQM) - Qualification of Equipment Annex 3: Qualification of UV-Visible Spectrophotometers. 13.08.2020 tarihinde https://www.edqm.eu/en/quality-management-qm-documents adresinden erişildi.

[11] ASTM E275 - 08(2013) Standard Practice for Describing and Measuring Performance of Ultraviolet and Visible Spectrophotometers. 17.08.2020 tarihinde https://www.astm.org/Standards/E275.htm adresinden erişildi.

[12] The European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare (EDQM) - Qualification of Equipment Annex 4: Qualification of IR Spectrophotometers. 13.08.2020 tarihinde https://www.edqm.eu/en/quality-management-qm-documents adresinden erişildi.

[13] The European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare (EDQM) - Qualification of Equipment Annex 5: Qualification of Automatic Titrators. 13.08.2020 tarihinde https://www.edqm.eu/en/quality-management-qm-documents adresinden erişildi.

[14] The European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare (EDQM) - Qualification of Equipment Annex 6: Qualification of Piston Pipettes. 13.08.2020 tarihinde https://www.edqm.eu/en/quality-management-qm-documents adresinden erişildi.

[15] ISO 8655-2:2002 Piston-operated volumetric apparatus — Part 2: Piston pipettes. 17.08.2020 tarihinde https://www.iso.org/standard/29727.html adresinden erişildi.

[16] The European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare (EDQM) - Qualification of Equipment Annex 7: Qualification of Mass Spectrometer. 13.08.2020 tarihinde https://www.edqm.eu/en/quality-management-qm-documents adresinden erişildi.

[17] The European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare (EDQM) - Qualification of Equipment Annex 8: Qualification of Balances. 13.08.2020 tarihinde https://www.edqm.eu/en/quality-management-qm-documents adresinden erişildi.

[18] OIML R 76-1 Edition 2006 (E) - Non-automatic weighing instruments Part 1: Metrological and technical requirements – Tests. 17.08.2020 tarihinde https://www.oiml.org adresinden erişildi.

[19] EURAMET/cg-18/v.02 Guidelines on the Calibration of Non-Automatic Weighing Instruments. 17.08.2020 tarihinde https://www.euramet.org adresinden erişildi.

[20] The European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare (EDQM) - Qualification of Equipment Annex 9: Calibration/Qualification of pH Meters. 13.08.2020 tarihinde https://www.edqm.eu/en/quality-management-qm-documents adresinden erişildi.

[21] The European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare (EDQM) - Qualification of Equipment Annex 10: Qualification of Atomic Absorption / Atomic Emission Spectrometers. 13.08.2020 tarihinde https://www.edqm.eu/en/quality-management-qm-documents adresinden erişildi.

[22] The European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare (EDQM) - Qualification of Equipment Annex 11: Qualification of Analytical Columns. 13.08.2020 tarihinde https://www.edqm.eu/en/quality-management-qm-documents adresinden erişildi.

[23] OIML R 111-1 Edition 2004 (E) - Weights of classes E1, E2, F1, F2, M1, M1–2, M2, M2–3 and M3 Part 1: Metrological and technical requirements. 17.08.2020 tarihinde https://www.euramet.org adresinden erişildi.

[24] IEC 60584-1:2013 Thermocouples - Part 1: EMF specifications and tolerances. 17.08.2020 tarihinde https://webstore.iec.ch/publication/2521 adresinden erişildi.

[25] ILAC G24:2007 Guidelines for the determination of calibration intervals of measuring instruments. 17.08.2020 tarihinde https://ilac.org/publications-and-resources/ilac-policy-series/ adresinden erişildi.

[26] ILAC P10:07/2020 ILAC Policy on Metrological Traceability of Measurement Results. 17.08.2020 tarihinde https://ilac.org/publications-and-resources/ilac-policy-series/ adresinden erişildi.

[27] R10-12 (Rev. 04) - Metrolojik İzlenebilirlik Rehberi. 17.08.2020 tarihinde https://secure.turkak.org.tr/kapsam/kys adresinden erişildi.

[28] ISO/IEC GUIDE 99:2007 International vocabulary of metrology — Basic and general concepts and associated terms (VIM). 17.08.2020 tarihinde https://www.iso.org/standard/45324.html adresinden erişildi.

[29] Joint BIPM, OIML, ILAC and ISO declaration on metrological traceability. 17.08.2020 tarihinde https://www.bipm.org adresinden erişildi.