

**TİSİT**

TARIM İLAÇLARI SANAYİCİ, İTHALATÇI VE TEMSİLCİLERİ DERNEĞİ  
association of pesticide manufacturers, importers & agents

**ZİRAİ MÜCADELE  
İLAÇLARINDA  
TOKSİKOLOJİK  
ÇALIŞMALAR**

## ÖNSÖZ

*Tarım ürünlerinin arzu edilen miktar ve kalitede üretilebilmesi, bu ürünlerin hastalık ve zararlılardan korunabilmesi ile mümkündür. Bu nedenle özellikle gelişmiş ülkelerde tarımsal ilaçlar büyük miktarlarda uygulanmaktadır. Bu uygulamaların insan ve çevre sağlığına getireceği sakıncaları en aza indirebilmek için tarım ilaçlarında kullanılan etkili maddelerin toksikolojisi en ince detayına kadar incelenmektedir. Denilebilir ki insan sağlığında kullanılan etkili maddeler de dahil, başka hiç bir etkili madde bu boyutlarda incelenmemektedir.*

*Bu çeviride tarım ilaçları ile ilgili toksikolojik çalışmaların detayları verilmiştir.*

*Çok az Türkçe yayının bulunduğu bu konu Bayer AG. toksikoloji uzmanlarından F. L. Mihail'in TİSİT'in Ankara'da organize ettiği seminerde verdiği notlardan derlenmiştir.*

*Yararlı olması dileği ile,*

**Hikmet ZENGİN M. Sc.**

03. 06. 1994

# TARIM İLAÇLARI İLE İLGİLİ TOKSİKOLÖJİK TESTLER VE RİSK TAYİNİ

## GİRİŞ

Bu başlık altında tarım ilaçlarının modern testleri ile ilgili temel prensipleri açıklamaya çalışacağım. Açıklamalarımın son kısmında zirai mücadele ilaçlarını kullananlarla ilgili risk tayinindeki filozofi izah edilecektir.

Teknik detaylara girmeden önce birkaç kavram üzerinde durmak isterim.

İlk tarif etmek istediğim kavram toksikolojidir. Toksikoloji kimyasalların biyolojik sistem üzerindeki olumsuz etkilerini araştıran bilim dalıdır. Toksikoloji eskiden zehir bilimi olarak tarif ediliyordu. Gerçekten de toksikoloji eski Yunanca iki kelimeden oluşur: Toxikon ve Logos. Toxikon zehir demektir ve eskiden okların ucunu zehirlemek için kullanılırdı. Logos ise ilim, bilgi demektir.

Zaman geçtikçe toxikon = zehir anlamı değişmeye başladı ve orijinine bağlı olmaksızın (naturel veya insan yapısı) zararlı etkiye sahip herhangi bir kimyasal anlamında kullanılmaya başlandı. Mamafih bu husus bütün hülâsaların orijinine bağımlı olmaksızın aynı testlere tabi tutulacağı anlamına gelmemektedir. Mevcut yönetmelikler natürel ve sentetik orijinli olan maddelere oldukça farklı uygulamalarda bulunmaktadırlar.

Geçmiş bilgi ve deneyimlerimize dayanarak diyebiliriz ki natürel orijinli maddelere ya hiç veya yok denecek kadar az test uygulanmaktadır. Tabii olan her şey iyidir denemez. En şiddetli zehirler ve kanserojen potansiyeli en yüksek maddelerin pek çoğu natürel orijinlidir.

Diğer taraftan insanoğlu bilmediği her yeni şeyi çok tehlikeli olarak mütalaa etmektedir. Bu nedenle sentetik kimyasalların muhtemel risklerini miktar olarak tayin etmek için iki dünya savaşı arasında sıkı çalışmalar başladı ve son on sene de çok komplike, zaman alıcı ve pahalı olmaya başladı.

Kimyasal pestisitler en etkili ve komplike toksikolojik testlere tabi tutulmaktadır. Bu kritik ve yorucu prosedürü anlamak oldukça zordur.

Bu husus şöyle izah edilebilir. Pestisitlerin insanlar üzerindeki toksik etkileri tolere edilemez. İnsanları iyileştirmek için kullanılan ilaçların faydalı yanları yanında değişik organlarda sebep olduğu uygun olmayan etkileri de vardır. Buna yan etki denir. Pestisitlerin yan etkileri tolere edilemez, oysa beşeri ilaçlarda faydalı dozla, zararlı olabilecek doz arasındaki sınır son derece dardır. Bir hap insanı iyileştirebilir; ancak on hap insanı zehirleyebilir.

Uygulamada belli zararsız doz ile toksik doz arasındaki fark güvenlik sınırı olarak adlandırılır. Beşeri ilaçlar ve diğer kimyasallarla mukayese edildiğinde pestisitler için bu sınır daha geniştir. Buna karşılık pestisitlere uygulanan toksikolojik testler diğer kategorilerdeki maddelere göre çok daha detaylı tutulmuştur. Örnek: Endüstri kimyasalları için bazı temel testler toksikolojik veriler için yeterli sayılmaktadır.

Toksikoloji ile ilgili bazı kavramları açıklamak gerekirse (Tablo 1):

**Tehlike:** İlaça maruz kalma ve bulaşma süresine veya kimyasalla temas perioduna bağlı olan risktir.

Tarım ilaçları ile ilgili ihtimal dahilindeki tehlike araştırmaları üç ana bölümle ilgilidir (Tablo 2).

### TABLO 1 - TEHLİKE = TOKSİSİTE X BULAŞMA X ZAMAN

NEREDE:	
TEHLİKE	= Zehirlenme riski
TOKSİSİTE	= Zarar verme kabiliyeti
BULAŞMA	= Vücuda giriş için önceden varolma
ZAMAN	= Pestisitlerle temas süresi

### TABLO 2 - MUHTEMEL TEHLİKELER

- ⇒ MEŞGULİYET NEDENİYLE TEHLİKE  
Üretim, Nakliye, Depolama, Kullanım
- ⇒ GIDA VE İÇME SUYU TÜKETİMİ  
Kalıntı veya bulaşmalarla
- ⇒ ÇEVRENİN MARUZ KALMASI  
İnsan dahil hedef olmayan organizmalar

### TABLO 3 - 15 TEMMUZ 1991 TARİHLİ, KONSEY DİREKTİFİ DOĞRULTUSUNDA, ZİRAİ MÜCADELE İLAÇLARININ PAZARLANMASI (91/414/EEC)

Aktif maddeler üzerinde toksikoloji ve metabolizma çalışmaları

#### 5.1. AKUT TOKSİSİTE

- 5.1.1. Ağızdan
- 5.1.2. Deri altına
- 5.1.3. Teneffüs yolu ile
- 5.1.4. Karın zarına
- 5.1.5. Deri ve gözde irritasyon
- 5.1.6. Deri hassasiyeti (Magnusson kligman protokolü)

#### 5.2. KISA SÜRELİ TOKSİSİTE

- 5.2.1. Ağızdan kümülatif tosisite (28 günlük çalışma)
- 5.2.2. Ağızdan uygulama-iki tür, biri rodent (tercihan sıçan) diğeri kemirgen olmayan. Genellikle 90 günlük çalışma
- 5.2.3. Diğer yollar (Teneffüs, deri altına)

#### 5.3. KRONİK TOKSİSİTE

- 5.3.1. Ağızdan uzun süreli toksisite, kanserojenite (sıçan ve diğer memeli türlerde) uygun olan diğer yollar.
- 5.4. Gen mutasyonlarını saptamak için mutajenisite test serisi kromozom sapmaları, DNA karışıklığı (intizamsızlık)

#### 5.5. ÜREME TOKSİSİTESİ

- 5.5.1. Teratojenite çalışmaları - taşvan ve kemirgen olmayan bir tür, ağızdan ve uygun zamanda
- 5.5.2. Memelilerde çok generasyonlu çalışmalar (en az iki generasyon)

**İştigal nedeni ile maruz kalma:** Pestisitlerin imalat işlemi ile başlayıp, sentez için kullanılan temel maddeler üzerindeki çalışmalar, sentez süresince oluşan ara maddeler ve aktif maddenin teknik derecelerine maruz kalma süresidir.

**Nakliye ve depolama:** Kaza ve akıntı nedeni ile aktif maddeye ve formülasyona yoğun olarak maruz kalmaz.

Anlatılacaklarının ikinci kısmı kullanma esnasında uygulayıcının tarım ilaçlarına maruz kalması ile ilgilidir. Püskürtme süresince maruz kalma sadece uygulayıcı ile sınırlı değildir. Potansiyel maruz kalma hava yolu ile taşınma nedeni ile bitişik çevre ile de ilgilidir.

İkinci olası tehlike tüketicilerin gıda ve suda ilaç kalıntıları nedeni ile maruz kalabileceği tehliktir. Bu gruptaki testler pestisitlerin uzun süreli etkilerini açıklamaya çalışır. Bir ilacın piyasada kalabileceği süre 10 veya 20 sene olabileceği var sayılsa bile, hesapların bir ömür boyu (70 sene) yapılması istenmektedir.

#### Toksikolojinin temel prensiplerinden birisi:

Değerlendirmeler ortalama duruma göre değil olabilecek en kötü duruma göre yapılır. Bir diğer deyimle emin olabilmek için toksikolojide oluşabilecek en büyük riskler dikkate alınır.

Son olarak çevre üzerinde olan etkilerin değerlendirilmesinde, evcil hayvanlar, çiftlik hayvanları, faydalı yaban hayatı, kuşlar, sudaki fauna ve flora, toprak ve toprak yapısı dikkate alınır. Çevreye olan etkilere endirek olarak pestisitlere maruz kalan insanlarda dahildir. Bu üçüncü kategori genellikle ekobiyolojik çalışmalara dahildir.

Mamafih, toksikoloji gerçek ekobiyolojik çalışmalara başlamadan önce yaban hayatı üzerinde oluşabilecek potansiyel risk, organizma ve gıda çemberindeki bioakümülyasyon üzerinde ilk bilgileri sağlar.

Yeni bir tarım ilacının uygulayıcı ve tüketici üzerindeki muhtemel toksik etkilerini araştırmak için iki neden vardır.

- Uygulamaya verilen tarım ilacının en düşük riski taşıması ile ilgili olarak ilaç imalatçısının sorumluluğu ve ilgisi
- Uygulayıcı ve tüketicinin korunması için kamuoyunun ilgisi

Uzun ve kısa süreli ve özel testlerle ilgili kurallar için İkinci Dünya Savaşından sonra milli ve milletlerarası kuruluşlar oluştu ve tanınmaya başlandı.

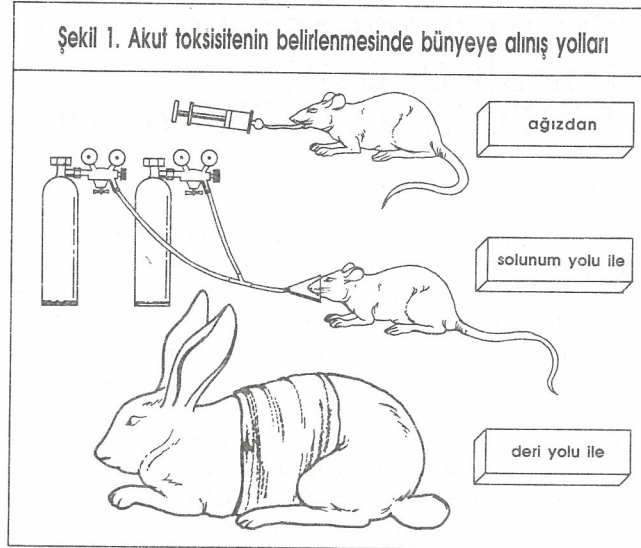
FAO ve WHO'dan ilim adamlarının oluşturduğu JMPR gıda katkı maddeleri ile ilgili ilk istekleri eski prensiplerden de yararlanarak adapte ettiler.

Örneğin Almanya'da kamuoyu ilgisi, pestisitlerin denemesi ile ilgili kurallar içeren zirai mücadele ilaçları kanunu ve bununla ilgili yönetmelikler ile temsil edilmektedir. Yeni bir aktif maddenin kabul edilmesinden önce detaylı toksikoloji çalışmalarının gerekliliği bu yönetmeliklerde belirtilmiştir.

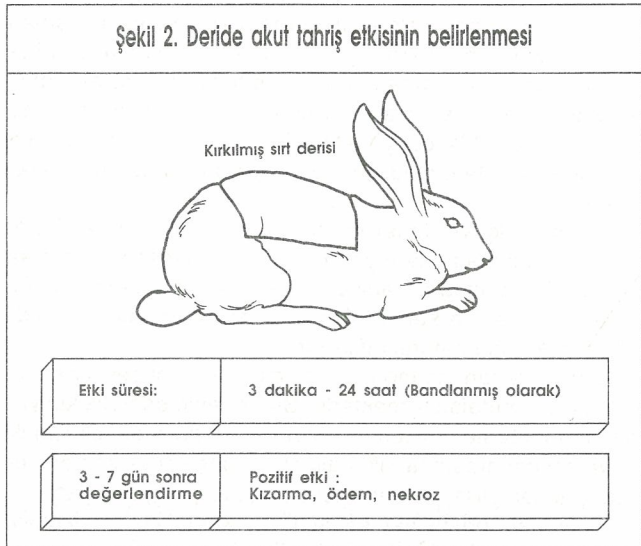
Yönetmeliklere göre yapılan testlerde herhangi bir olumsuz bilgiye rastlandığında imalatçı daha detaylı testler yapmaya kendini sorumlu tutar, ta ki etkisiz bir diğer deyimle risksiz seviye bulununcaya kadar. Alman Araştırma Kurumu (DFG) ve Avrupa, ABD ve Japonya gibi ülkelerde diğer milli kuruluşlar toksikoloji testleri ile ilgili yönetmelikler koymuşlardır.

Son 20 sene içerisinde ruhsatlandırma isteklerini uyumlu bir hale getirmek için çok gayret sarfedilmiş ve bu konuda uzun mesafeler alınmıştır. Ben burada Avrupa ruhsatlandırma isteklerini esas alacak ve Avrupa ile ABD arasındaki bazı özel farklılıkları anlatmaya çalışacağım (Tablo3 ve 4).

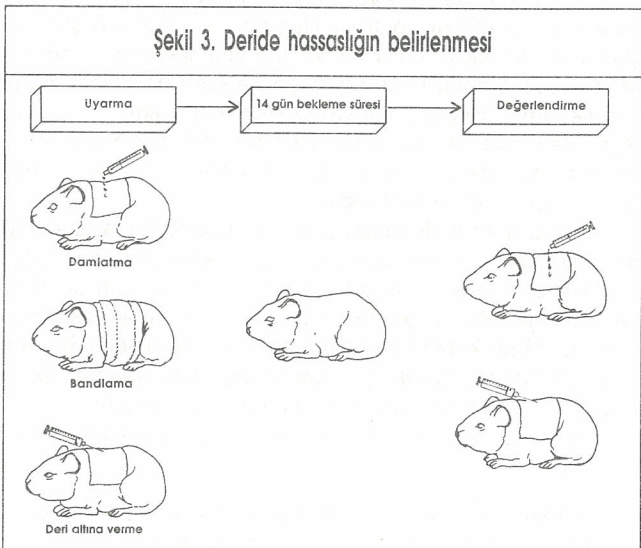
Şekil 1. Akut toksisitenin belirlenmesinde bünyeye alınış yolları



Şekil 2. Deride akut tahriş etkisinin belirlenmesi



Şekil 3. Deride hassasiğin belirlenmesi



TABLO 4 - TARIM İLAÇLARININ PAZARLANMASI İLE İLGİLİ 15 TEMMUZ 1991 TARİHLİ KONSEY YÖNETMELİĞİ

- 5.6 MEMELİLERDE METABOLİZMA ÇALIŞMALARI**
- Ağızdan ve deri altına uygulamadan sonra, alım, dağılım ve boşaltım çalışmaları
  - Metabolik yolların izahı
- 5.7. Nörotoksosite çalışmaları - tavuklarda** geciktirilmiş nörotoksosite çalışmaları da buna dahildir.
- 5.8. TAMAMLAYICI ÇALIŞMALAR**
- İlaçlanmış bitkilerden elde edilen metabolitlerin (hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalarda farklılıklar saptandığında) toksik etkileri
  - Toksosite çalışmalarında açıklanmasına ihtiyaç duyulan hususlar
- 5.9. Evcil hayvanlarda, çiftlik hayvanlarında toksik etkiler.**
- 5.10. Tıbbi veriler**
- İlaç imalatında çalışanlar üzerinde tıbbi gözetim
  - Direkt gözlem, örneğin klinik vakalar, zehirlenme vakaları
  - Endüstri ve tarım kesiminden sağlık kayıtları
  - Gerekirse genel nüfus üzerinde epidemiolojik gözlemler
  - Zehirlenmelerin teşhisi (aktif madde ve metabolitlerin tayini). Zehirlenmenin özel işaretleri, klinik testler
  - Hassasiyet/allerji gözlemleri
  - Teklif edilen uygulama: İlk yardım terbipleri, antidotlar, tıbbi uygulamalar
  - Zehirlenmenin beklenen etkilerinin ön tahmini

TABLO 5 - AKUT TOKSİSİTE

- Soru : Tekbir doza veya yüksek doza kısa süreli maruz kalmanın etkisi
- Durum : Mesleki kaza, zehirlenme, yanlış kullanım
- Prosedür : ağızdan sıçan (diğerleri)  
deri yolu ile sıçan, 24 saat  
teneffüs yolu ile sıçan, 4 saat dinamik
- Cevap : LD 50, LC 50  
doza duyarlılık belirtiler  
sınıflandırma

TABLO 6 - SUBKRONİK TOKSİSİTE

- Soru : Yüksek doza tekrar tekrar maruz kalmanın etkileri
- Durum : İlaçla uğraşanlar, tüketiciler
- Prosedür : sıçanda oral tavşanda dermal sıçanda teneffüs  
1 - 3 ay  
3 doz + kontrol
- Cevap : toksisite profili  
doz - duyarlılık  
doz - bulgular

## TARIM İLAÇLARININ STANDART TESTLERİ

#### Aktif madde üzerinde çalışmalar

EC (Avrupa Topluluğu) yönergelerinde ilk kategoride akut toksisite testleri yer alır. Bunun anlamı aktif madde bir defa ve kısa bir süre için (1 haftadan az olmamak kaydı ile) verilir. Akut toksisite genellikle oral (ağızdan), dermal (deriden), intraperitoneal (karın zarı arasına) ve inhalatif (solunum yolu ile) yapılan uygulamalardan ibarettir (Şekil 1).

İlave olarak istenen intraperitoneal uygulamada kimyasalın likid formülasyonu karın zarı ile barsak arasına enjekte edilir. Bu uygulamada kimyasal, vücuda mide-barsak yolu ile geçmez. Bazı kimyasallar çok toksik olmasına rağmen mide ve barsaklar tarafından intraperitoneal uygulamada yavaş yavaş emildiğinden ve tam olarak alınmadığından muhtemel toksisite ihtimalini belirlemede bu metodun büyük yararı vardır.

Akut toksisite ile ilgili ana hususlar tablo 5'de gösterilmiştir. Ben burada akut toksisite ile ilgili modern anlayışı içeren dört önemli noktaya dikkat çekmek istiyorum.

a) Yeni bir kimyasal maddenin taşınması ile ilgili koruyucu önlemler için bir gösterge olarak düşünülebilir.

b) Nakliye, taşıma ve kullanımda toksisite ve tehlike sınıflandırması için temel oluşturur.

c) Akut toksisite denemelerinde baz alınan rakam LD 50'dir. LD 50 deneme hayvanlarının %50'sini öldüren doz anlamına gelir. Tarihi gelişim süreci içerisinde LD 50'nin anlamında da değişimler oldu. Bu husus hayvanları koruma kanununa da uygundur. Bu tür denemelerde kullanılan hayvan türü sıçandır.

d) Akut toksisite LD 50 tayininden daha ötede bir anlam kazandı. Aktif madde üzerinde yapılan hassas bir çalışmadan elde edilen sonuçlar akut NOEL (No Effect Level = etkisiz seviye), LEL (Lowest Effect Level = en düşük etkili seviye), ölümlü meydana getirmeyen en yüksek doz ile LLD (Lowest Lethal Dose = en düşük öldürücü doz) ve dozlarla etki arasındaki ilişkileri belirlemelidir. Simptomlar üzerinde bilgi vermemelidir. Simptomların gelişmesi, zehirlenme belirtileri, gecikmiş etkiler, organ ve sistemlerdeki tahribat üzerinde bilgiler vermemelidir.

Bu noktada GLP (Good Laboratory Practice = laboratuvarın yüksek standartta olması = işin en iyi şekilde yapılması) gerekmektedir. Yalnızca uzun ve komplike testler için değil, akut toksisite üzerindeki basit ve kısa bir test bile GLP isteklerine uygun olmalıdır. GLP kalite kontrolünde modern anlayışı simgeler. GMP (Good Manufacturing Practice = imalatın yüksek standartlarda olması) GAP (Good Agricultural Practice = tarımsal faaliyetin yüksek standartta olması) diğer örneklerdir.

GLP isteklerine uygun bir çalışma şu hususları içermektedir.

- Çalışma başlamadan önce imzalı bir test protokolü düzenlenmelidir.

- Denemenin bütün aşamalarına ait dökümantasyon bulunmalıdır. Böylece kontrol mümkün olur.

- Test protokolündeki bütün sapmalar işaretlenmelidir. Böylece her şey görülebilir ve ispatlanabilir.

- Bütün işlerin özel bir bölüm (kalite garanti ünitesi) tarafından yönlendirilmesi ve gözetilmesi.

Hazırlama, taşıma ve kullanım esnasında pestisitler deri ve gözle temas edebilir. Kimyasalın direk olarak deri ve mu-

kozanın membranı ile interaksiyona girmesi sonucu tahrişler oluşur. Bu reaksiyonlar kimyasalın tipine göre hafif düzeyde yanıklardan, düzelmesi mümkün olmayan durumlara kadar değişebilir (Şekil 2). Bu tür testlerde deneme hayvanı beyaz tavşandır.

Derideki tahrişlerle ilgili testlerde süre 4 saattir. Test maddeleri fiziksel ve kimyasal özelliklerine göre, yüksek oranda aşındırıcı, asit veya bazikse, hayvanlara önceden bilinen lüzumsuz zarar vermemek için denenmez.

Hayvanları Koruma Kanunu'na göre gözde yapılması istenen testler için eğer kimyasal, yüksek derecede asit veya baz ise ve güçlü olarak tahriş edici özelliği biliniyorsa bu testler istenmeyebilir.

Avrupa topluluğu konsey yönergesine göre deride tahriş (hassasiyet) testinin yapılması istenmektedir (Magnusson Kligman Protokolü tercih edilmektedir). İmmunolojik bir işlem olan kontak tahrişte çok düşük dozda tahriş materyalinin tekrarlı uygulanması sonunda yanıklar şeklinde tahrişler ortaya çıkabilir. Bu tür reaksiyona **gecikmiş etki** denir ve reaksiyon IV diye adlandırılır. Deri tahriş çalışmaları ya materyalin bu husustaki temel potansiyelini veya pratik şartlarda miktarını saptar.

Magnusson-Kligman Protokolü bu iki kategori ile ilgilidir. Bu test maksimizasyon testi olarak da adlandırılır. Çünkü şartları maksimuma çıkararak allerjik cevapları da bulmaya çalışır.

Bunun için:

- Deri içi ve deri üstü kombinasyonu,
- Vücudun koruma mekanizmasını tahrik etmek için **Freud maddesi** olarak adlandırılan (ölü bakterilerden ibaret bir karışım) bir maddenin kullanılması gereklidir.

(Şekil 3) deri tahriş çalışmaları için uygulanan deneme testlerini göstermektedir. Yeni bir aktif maddenin akut test çalışmaları bitince, subakut ve kronik test çalışmaları için hazırlıklara başlanabilir.

Bu testler tekrarlı uygulamalar sonucunda toksikoloji ile ilgili verileri elde etmek veya nerelerde toksikolojik olarak etkiler oluştuğunu saptamak için yürütülür. Hangi dozlarda zarar verebilmektedir veya zararlı olmayan en düşük doz hangisidir (NOEL). En nihayet bu testler meydana gelen değişikliklerin düzelebilirlik eğilimlerini tayin etmeye yarar.

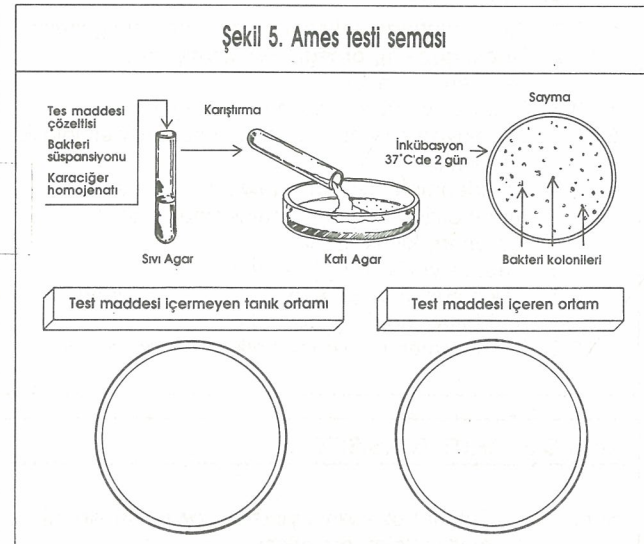
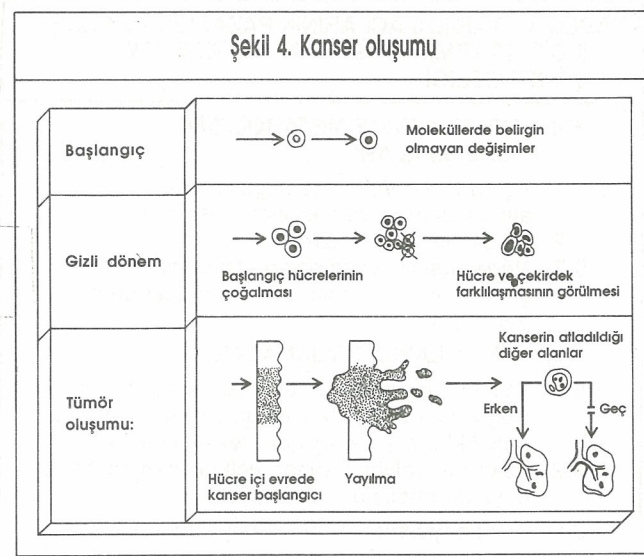
Tablo 6 subkronik testlerle ilgili ana hususları içermektedir. Bütün bu hususları açıklayabilmek için pek çok doz denenir ve şahitler karşılaştırılır. Uygulama yapılan gruplar oldukça büyük sayıdadır. (Kemiriciler için: Her cinsiyet ve doz için 10 veya 15 hayvan). Bu şekilde her grup için gerekli işlemler yapılabilir ve elde edilen veriler istatistik analizi için yeterli olur.

Subakut ve subkronik çalışmalar birçok araştırmayı gerektirir ki bunlar:

- Klinik gözlemler
- Gıda ve su alımı
- Vücut ağırlığı ölçümleri
- Refleksler ve vücut sıcaklığı
- Hematoloji
- Klinik kimyası (kan, idrar, doku örnekleri)
- Göz içi muayenesi
- Genel nekropsi ve histopatoloji

Subakut ve subkronik toksisite aynı cinsten ve cinsler arasında yeni bir aktif maddenin toksikolojik geleceğini karşılaştırma olanağını sağlar.

**Intraspesifik** (= aynı cinsten): Oral ve en az solunum toksisitesinin sıçanlarda mukayese edilmesidir.



**TABLO 7 - KRONİK TOKSİSİTE**

Soru	: Uzun süre devamlı maruz kalmanın etkisi
Durum	: ilaçla uğraşanlar, tüketiciler
Prosedür	: ağızdan, köpek 12 ay besleme 3 doz + şahit
Cevap	: ADI için NOEL

**TABLO 8 - KANSEROJENİTE**

Soru	: Uzun süreli devamlı maruz kalmanın etkisi özellikle tümör oluşumu üzerinde
Durum	: ilaçla uğraşanlar, tüketiciler
Prosedür	: oral, sıçan fare 24/30 ay besleme 3 doz + şahit
Cevap	: ADI için NOEL

**TABLO 9 - EC SINIFLANDIRMASI - MEVCUT GÖRÜŞ**

**KANSEROJEN ÖZELLİKLİ MADDELER**

**KATEGORİ 1 :**

İnsanlara kanserojen olduğu bilinen maddeler. Bu hususta maruz kalınma ile kanser oluşumu arasında ilgi olduğuna dair kafi derecede kanıt vardır. Sınıflandırma için kesin epidemiyolojik bulgulara ihtiyaç vardır.

**KATEGORİ 2 :**

İnsanlarda kanserojen olabilecek maddeler. Bu maddelere maruz kalan insanlarda kanser oluşabileceğine dair kuvvetli bulgular mevcuttur.

Kategorilendirme için hayvanlarda uzun süreli çalışmalara ihtiyaç vardır. Bu çalışmalarda tümör oluşum sıklığı ve diğer geçerli bilgiler not edilir (mutajenite ve kanserojenite ile ilgili kısa süreli çalışmalar).

**KATEGORİ 3 :**

Bu grup insanlarda kanser yapma etkisine ihtimal dahilinde sahip olabilecek fakat elde güvenilir bir değerlendirme yapabilecek bulguların bulunmadığı maddelerdir. Hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalarda bazı bulgular elde edilmesine rağmen bunları 2'nci kategoriye sokacak yeterlilikte değildir.

**TABLO 10 - EC SINIFLANDIRMASI - MEVCUT GÖRÜŞ**

**MUTAJEN ÖZELLİKLİ MADDELER**

**KATEGORİ 1 :**

İnsanlara mutajen olduğu bilinen maddeler. Bu maddelere maruz kalındığında kalıtsal bozukluklar meydana geldiğine dair yeterli işaretler mevcuttur.

Bir maddeyi kategori 1'e sokabilmek için insanlarda mutasyona neden olduğuna dair kesin bulgulara ihtiyaç vardır. Bunun için de epidemiyolojik çalışmalara ihtiyaç vardır. Halen böyle bir maddenin varlığı bilinmemektedir.

**KATEGORİ 2 :**

İnsanlarda mutajen olabileceği düşünülen maddeler. Bu maddelere maruz kalındığında kalıtsal bozukluklar meydana gelebileceğine dair nedenler vardır.

Maddelerin kategori 2'ye dahil edilmesi için vivo şartlarda memelilerde üreme hücrelerinde mutajen etki olduğuna dair pozitif bulgulara ihtiyaç vardır veya vivo şartlarda memelilerde hücreler arası interaksiyonlarda manidar bulgular olmalı; veya memeli doku hücrelerinde vivo şartlarda mutajen etki bulunmalı ve hülsanın üreme hücrelerine penetre olduğuna dair işaretler olmalı.

**KATEGORİ 3 :**

Bu kategoriye insanlar da mutajen etkiye ihtimal dahilinde sahip olan maddeler girer. Fakat elde mevcut bilgiler bunların kalıtsal olarak genetik bozukluklar meydana getirdiğine dair yeterli değildir. Mutajenite çalışmalarında (vivo şartlarda memeli doku hücrelerinde pozitif bulgu veya mutajenite için önemli hücre interaksiyonları). Ancak bu bulgular bu maddeleri 2'nci kategoriye sokmak için yeterli değildir.

**Interspesifik** (= cinsler arası): Aynı aplikasyon yolu ile değişik test hayvanlarında mukayese imkânı verir. (Sıçan, fare ve köpeklerde oral denemeler).

Kronik toksisite ile ilgili olarak ana hususlar Tablo 7'de gösterilmiştir (Köpeklerde yapılan çalışmalar örnek alınmıştır).

Kronik toksisite çalışma deseni subkronik çalışma desenine çok benzer. Sıra ile aşağıdaki çalışmaların da yapılması gerekir:

- Uzun süreli maruz kalmadan sonra bile etkisiz en düşük seviyenin subkronik çalışmalarda elde edilen sonuçların altında olduğunu kontrol etmek gerekir.

- Uzun sürede yeni hedefler ortaya çıkıyorsa bunlar belirlenmelidir.

Kronik ve uzun süreli çalışmalar birbirine karıştırılmamalıdır.

Kronik test bağımsız olarak bir hayvan türü üzerinde 6 ay veya daha uzun süreli bir çalışmadır.

Uzun süreli çalışma ise test hayvanının bütün hayatı süresince süren çalışmalardır.

Köpekler üzerinde yapılan 2 yıllık bir çalışma uzun süreli bir çalışma olmayıp sadece kronik bir çalışmadır denebilir, oysa bu sürede bir çalışma fare ve sıçanlarda yapılırsa uzun süreli çalışma sayılır.

Köpeklerde kronik çalışmalar 12 ay sürer, sıçanlarda uzun süreli çalışmalar 24-30 ay sürer. Farelerdeki onkojenite çalışmalarının standard uzunluğu 18-24 aydır.

Fare ve sıçanlardaki uzun süreli çalışmalar, kanserojen etkileri bulmak dahil beslenme testleri şeklinde düzenlenir. Bu muhtemel tümör oluşturabilme etkisini ortaya çıkarabilmek için istenen temel çalışmadır. Zira tümörler uzun süre latent kalıp, hayvanın hayat süresi sonuna doğru ortaya çıkar.

Onkojenisite / Kanserojenisite ile ilgili ön hususlar Tablo 8'de verilmiştir. Kanserojenite ile ilgili 3 ana safha vardır. (Şekil 4).

**A) Başlama safhası**

Başlangıç noktası DNA moleküllerindeki değişimdir. Böylece genetik materyal stabilitesini kaybeder. Bu da onkojeniteyi tahrik eder veya bunu önleyen genleri inaktif hale getirir.

**B) Gelişme safhası**

Bu safhada biyokimyasal ve özel morfolojik araştırmalarla tipik hücreler saptanabilir.

**C) Ortaya çıkma**

Bu safhada tümör oluşur.

Tablo 9 kanserojen maddeler için 3 kategori içeren EC sınıflandırma şemasını göstermektedir.

Kanserojen maddeler için değişik sınıflandırma sistemleri de vardır. IARC (International Agency for Research on Cancer), EPA (Environment Protection Agency - USA).

Bu komplike çalışmaların sonuçlarını değerlendirirken bazı hususlara dikkat etmek gerekir. Bazı durumlarda kanser işareti olarak yanlış değerlendirmeler yapılabilir.

- Maksimum tolere edilebilir doz (MTA = Maximum Tolerated Doze) veya üzerindeki dozlarda tümör oranının artışı

- Hormonal dengesizlik, kronik tahribat veya kronik iltihaplanma temeline dayalı tümör oranı artışı

- Kısa süreli onkojenisite çalışmalarında genotoksik, mutajenik belirtilere rastlanmayıp sadece iyi huylu tümör oranındaki artışlar

EC yönetmelikleri (Tablo 3'te gösterildiği gibi) bir seri mu-

tajenisite testini şart koşmaktadır (en az 5 değişik deneme).

Mutajenisite (ve genotoksisite) genetik materyalde değişiklik veya tahribat yapabilme özelliklerinin araştırılmasıdır.

**Bu testleri yapmanın iki ana nedeni vardır:**

DNA üzerindeki etki genetik materyali de stabilize edebilir veya hatalı DNA oluşturabilir. Eğer tamir mekanizması tam çalışıp bu hataları ortadan kaldırmazsa iki olası kötü senaryo ortaya çıkar.

1 - Üreme hücrelerindeki genetik bilgiyi taşıyan genetik materyalin mutasyona uğramasıdır. Bu durumda genetik materyal, gelecek nesillere aktarılır. Ana sorumluluk, üzerinde çalışılan maddenin üreme hücreleri üzerinde olumsuz bir etkisinin olmadığından kesinlikle emin olmaktır.

2 - Genetik bilgiyi taşıyan genetik materyalin mutasyona uğramasıdır. Bu durumda genetik materyal, gelecek nesillere aktarılır. Ana sorumluluk, üzerinde çalışılan maddenin üreme hücreleri üzerinde olumsuz bir etkisinin olmadığından kesinlikle emin olmaktır.

Mutajenisite / Genotoksisite çalışmalarında araştırılacak 3 ana nokta vardır.

- Uç mutasyonlar, genellikle tek geni etkilerler
- DNA tahribat / tamir
- Kromozom ve genom sapmaları

Mutajenisite testleri deneme deseni olarak çok değişiklik gösterebilir. Bu testler hayvanlarda (in vivo) veya hücre, hücre kültürü, bakteri, mantar (in vitro) yürütülebilir. Vitro şartlarda memelilere ait sistemlerde büyüme ve üreme hücreleri kullanılarak yürütülür.

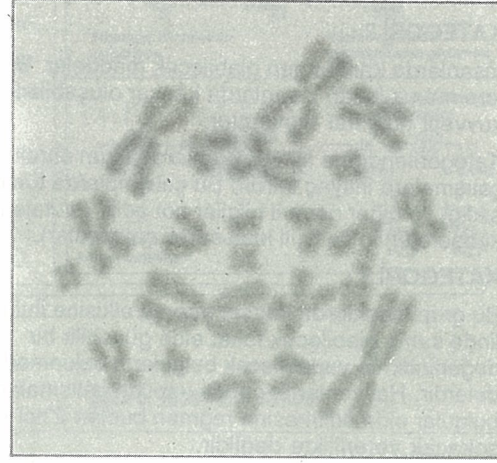
Şekil 5 klasik Salmonella typhimurium geriye doğru mutasyonu şematize etmektedir. Bu Ames Testi olarak da adlandırılır Şekil 6'da Çin hamsterinin, kemik iliğinde karyotipik analizler için kullanılan farklı iki metafaz gösterilmiştir.

EC sınıflandırmasına göre (Tablo 10) mutajen potansiyeli olan maddeler farklı sınıflara yerleştirilebilir. Mamafih bu sınıflandırma yapılmadan önce tüm şartlarda bu muayenelerin yapılması gereklidir. Bu şartlar altında bile testlerin ortaya çıkardığı şeyler bütün testler için eşit ağırlıkta değildir.

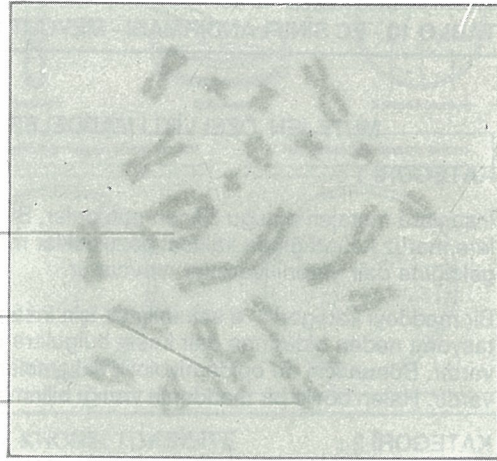
**Şekil 6. Çin Homsterinin kemik iliğinde yürütülen araştırmalar**

**Kromozom görüntüsü**

**Uygulama yapılmamış bir hayvanda metafaz görüntüsü (kontrol)**



**Mutajen etkili madde uygulanmış bir hayvanda metafaz görüntüsü**

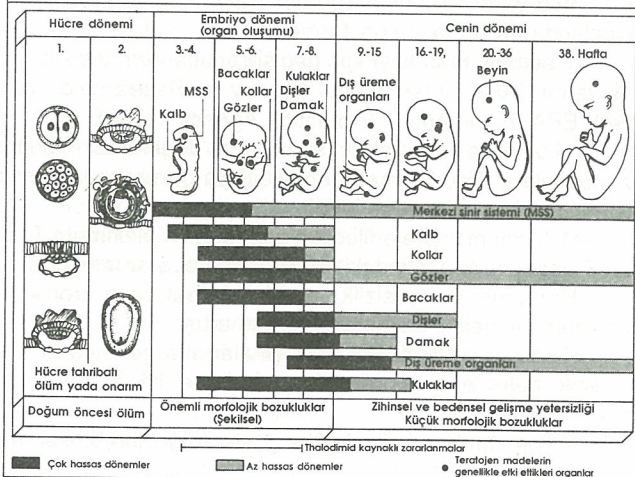


Halka kromozom

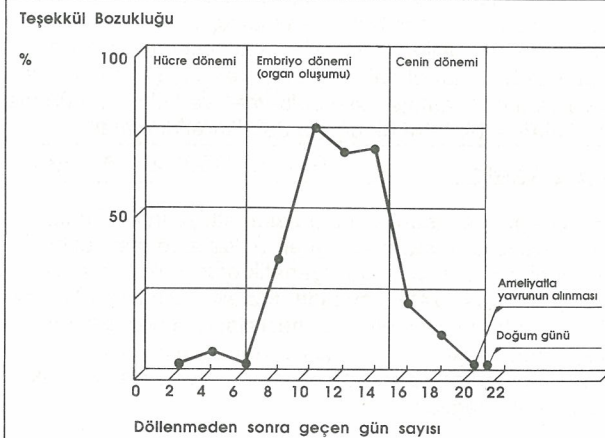
Kırılma

Translokasyon

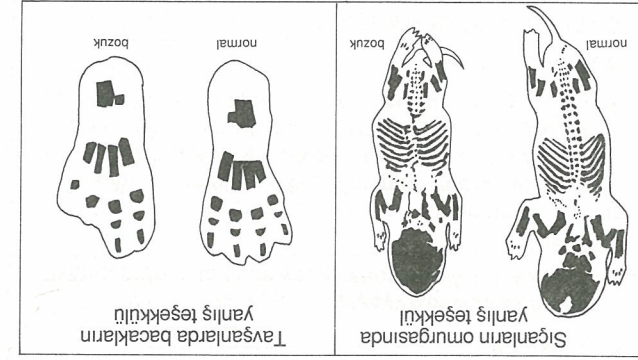
**Şekil 7. İnsanda teşekkül bozukluklarının oluştuğu hassas dönemler**



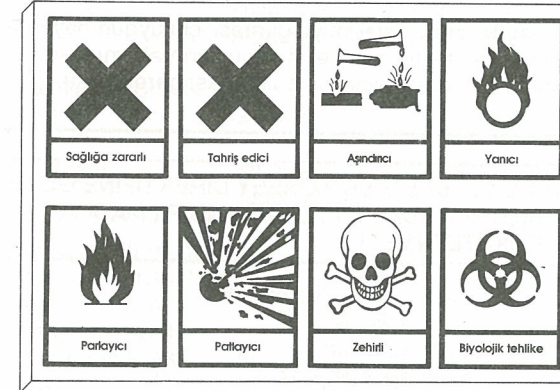
**Şekil 8. Sığırcılarda teratojen maddelere duyarlılık**



**Şekil 9. Teratojen maddeler nedeniyle oluşan iskelet bozuklukları**



**Şekil 10. Tehlike işaretleri**

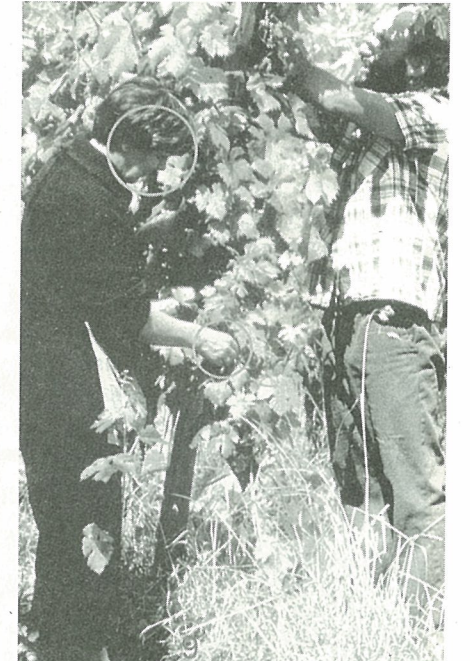
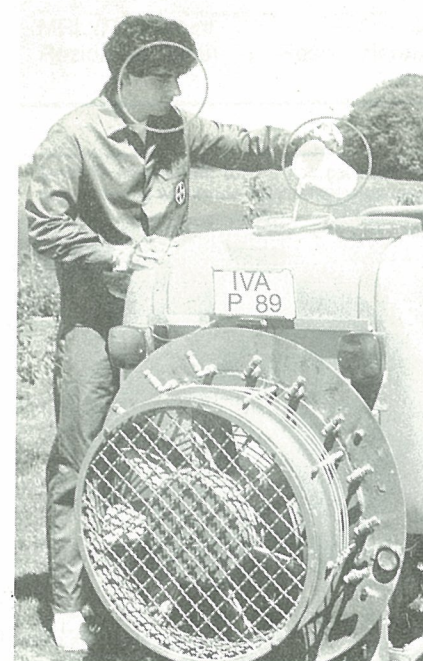


**Şekil 11. Tarım ilaçları ile temas olasılıkları (Yüksek boylu bitkiler)**

**İlaçlı çözeltinin hazırlanması**

**Uygulama**

**Bakım işleri**



Cenini dikkatli bir şekilde muayene edebilmek için, ana hayvanlar doğumdan kısa süre önce feda edilerek cenniler tek tek muayene edilir; tartılır, cinsiyetleri; dıştan bir zarar olup olmadığı saptanır.

Buna ilaveten bir kısım ceninin alizarin'le boyanmış iskeletlerinde bir bozukluk olup olmadığı araştırılır. Geri kalan hayvanlar parçalanır (tavşan), ya da Dawsan tekniği ile dilimlenir (sıçan) ve dahili değişiklikler ve arazlar incelenir (Şekil 9). Alizarin kırmızısı ile boyanmış (ki buna Vilson tekniği de denir) muayene edilecek örnekleri göstermektedir.

Gelişmede risk taşıyan, üremeyi bozan maddeler EC sınıflandırmasına göre 1 ve 2 nolu kategoriye girer (Tablo 11). Bu denemelerden elde edilen bilgilerin değerlendirilmesi oldukça zordur ve bilgi kabilinden kullanılmalıdır. Kimyasalları üremeye toksik olarak sınıflandırmakta bazı yanlışlar yapmak her zaman mümkündür. Bazı hallerde deneme süresince embriyotoksik etkiler ortaya çıkabilir, fakat aşağıda izah edilen nedenlerle bunlar embriyotoksik veya teratojenik olarak mütalaa edilmemelidir.

- Fizyolojik olmayan maruz kalma yolu ile (örnek: karın içine) üremeye toksik etki gösteriyorsa.

- Toksik etki insanlarda olmayan veya çok sınırlı bir şekilde bulunan mekanizma veya biyolojik şartlarda oluşuyorsa (örneğin tahriş edici bir hülasayı soluduktan sonra kemirgenlerdeki özel solunum modeli; hamile farelerde steroid hormon dengesizliği gibi).

- Doğada üreme üzerine olan etki ikinci derecededir ve bu güçlü sistemik toksisite (ana hayvanlar tahrip olur veya yarı öldü.ücü şartlarda cenin ile lüzumlu hülasalar, besleyici maddeler teşekkül etmez) ve stres üzerine bina edilmiştir.

Bundan sonraki araştırma kategorileri **biokinetik ve metabolizma** üzerinde çalışmalardan ibarettir. Biokinetik çalışmaları absorpsiyon, dağılım, kalıcılık ve tarım atılımı ile ilgilidir. Bir ürünün organ ve dokulardan hızla atılımı veya birikimi

#### TABLO 11 - EC SINIFLANDIRMASI - MEVCUT GÖRÜŞ

##### ÜREMİYİ BOZABİLEN VEYA GELİŞME ÜZERİNE TOKSİK OLABİLEN MADDELER

###### KATEGORİ 1 :

Üremeyi bozduğu bilinen veya insanlarda embriyotoksik olduğu bilinen maddeler bu kategoriye girer. Bu maddelere maruz kalan kimselerde üreme fonksiyonlarında bozukluklar meydana geldiğine dair kafi işaretler mevcut veya direkt olarak yavrularda kalıtsal olmayan anormallikler.

Bir maddeyi bu gruba sokabilmek için kesin epidemiolojik bulgulara ihtiyaç vardır.

###### KATEGORİ 2 :

Üremeye veya gelişmeye toksik olduğu mütalaa edilen maddelerdir. Bir şahsın bu tür hülasalara maruz kalması ile üreme fonksiyonlarında tahribat veya doğruca yaruda kalıtsal olmayan bozukluklara neden olduğuna dair inandırıcı kafi işaretler mevcuttur.

Bir maddenin bu kategoriye girmesi için uygun hayvanlarla yapılan testlerden kesin sonuçların alınmış olması ve diğer inandırıcı bilgilerin bulunması gerekmektedir.

#### TABLO 12 - 67/548/EC KONSEY DİREKTİFİNE GÖRE, AKTİF MADDELERİN SINIFLANDIRILMASI VE ETİKETLENMESİ

- \* Zarar işareti (İşaretleri)
- \* Tehlike işareti
- \* Risk cümleleri
- \* Güvenlik cümleleri

#### TABLO 13 - TARIM İLAÇLARININ PAZARLANMASI İLE İLGİLİ 15 TEMMUZ 1991 TARİHLİ KONSEY YÖNETMELİĞİ

5.11. Memelilerdeki toksikoloji özeti ve sonuçlar = Gözlenemeyen en yüksek etki seviyesi, (NOAEL), gözlenemeyen etki seviyesi (NOEL), günlük alınabilir miktar (ADI) dahil tüm toksikolojik data ve aktif madde ile ilgili diğer tüm bilgiler üzerinde tüm değerlendirme.

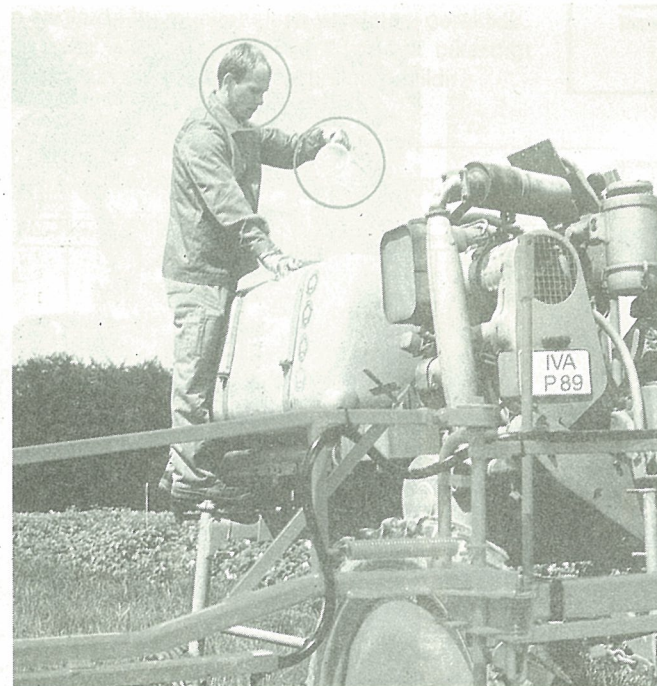
#### TABLO 14 - ADI HESAPLANMASI - DEĞER VE TOLERANSLAR

NOEL	Kronik/subkronik beslenme çalışmalarında en hassas tür ve cinsiyet alınır ppm olarak ifade edilir = mg/kg besleme
↓	
Dönüşüm	Hayvanın mg/kg olarak vücut ağırlığı ("ADI" hayvanlar için)
↓	
Güvenlik faktörü ile bölünür	Genellikle 100
↓	
ADI- değeri	Erkekler (insan) için mg/kg olarak vücut ağırlığı
↓	
Tüm hayat süresinin bir kısmında insanlar (erkek) için günlük alınabilir müsaade edilen en yüksek miktar	ADI x vücut ağırlığı erkek için (ortalama 60 kg)
↓	
Beslenme faktörüne bölünür	Toksikolojik olarak en yüksek muhtemel tolerans
↓	
En iyi tarım tekniği sonu kalan rezidü	↓
↓	
MRL (Maksimum Rezidü Seviyesi) →	Resmi toleranslar

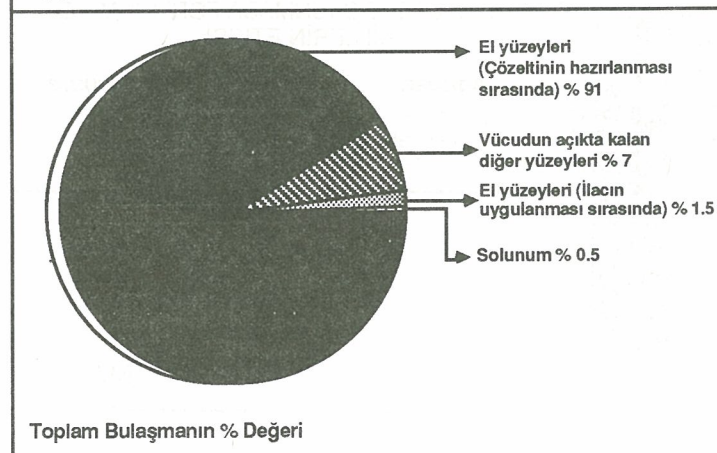
Şekil 12. Tarım ilaçları ile temas olasılıkları (Tarla bitkileri)

İlaçlı çözeltinin hazırlanması

Uygulama



Şekil 13 - Islanabilir toz bir ilaç çözeltisinin hazırlanması ve ağaçlara uygulanması sırasında meydana gelen maruz kalmanın dağılımı



ile ilgili bilgiler muhtemel birikimle ilgili uzun süreli çalışmalar için çok faydalı olur.

Metabolik yolların araştırılmasının özel önemi vardır. Bazı maddeler kolayca ayrışarak zararsız ayrışım ürünlerine dönüşürler. Bazıları ise toksik metabolitlere dönüşürler ki bunların ana ürüne benzer yanları yoktur. Kritik yapıya sahip metabolitler çok az bile olsa; uygulama süresi uzunsa, problemler yaratabilir.

Metabolizma ve biokinetik çalışmalar radyoaktif maddeler üzerinde yapılır, test hayvanı ise sıçandır. Özel durumlarda emzikli keçi ve yumurtalayan tavuklar üzerinde testler yapılır.

Nörotoksisite çalışmalar (Tablo 4) özellikle organik fosforlu ilaçlar için istenir. Bu kimyasallardan bazıları nörotoksisiteye sebep olmuşlardır (Örnek: Tavuklarda vücut hareketlerinde intizamsızlık).

Nörotoksik etki aşağıdaki parametrelerin ölçüm ve gözlemleriyle belirlenebilir.

- Asetilkolinesteraz ve NTE (Neuropathy Target Esterase) ölçümleri
- Klinik gözlemler
- Tüm ve histopatolojik araştırmalar

Her yeni tarım ilacı için tamamlayıcı çalışmalar yapılmalıdır. İlacın uygulandığı bitkilerde yapılan çalışmalarda, deneme hayvanlarında yapılan çalışmalardan farklı ve önemli miktarda metabolitler oluşuyorsa bunların insan sağlığı üzerindeki etkileri ile ilgili toksikolojik denemeler yapılmalı ve ilacın kimyasal sınıfı ile yapısal faaliyetleri arasındaki ilgi araştırılmalıdır.

Oldukça değişken olan diğer kategoriler sırası ile şöyledir:

- Sinerjizm üzerinde çalışmalar
- Kolinesteraz ve diğer biyokimyasal işaretler üzerinde çalışmalar
- Antidot üzerinde çalışmalar
- Güvenlik farmakolojisi üzerinde çalışmalar
- Hormonlar üzerinde çalışmalar
- Kısa süreli kanserojen çalışmalar
- İmmunotoksikoloji üzerinde çalışmalar

Yeni EC yönergeleri tıbbi bilgilere gittikçe artan bir önem vermektedir.

Gönüllü insanlar üzerinde yapılan çalışmalar artık yapılmamaktadır ve epidemiyolojik çalışmaların sonuçları onlarca sene sonra alınabilmektedir. Bu nedenle artık dikkatler üretim yerlerinde, tarımda ve hastanelerde tutulan kayıtlar üzerinde yoğunlaştırılmaktadır. Endüstri bütün soruları tek başına cevaplayamaz. Tıp ve ruhsatlandırma yetkilileri ve endüstri arasında haberleşme ve bilgi alışverişi her ülke için ana gaye olmalıdır.

67/548/EC nolu konyey yönetmeliği yeni aktif maddeleri takdim edenlerin sınıflandırma ve etiket için tekliflerini vermelerini de istemektedir (Bakınız Tablo 12). Bu husus sadece özel olarak tarım ilaçları için değil, tüm kimyasallar için geçerlidir. Bütün kimyasalların tehlike sınıflandırması genelde akut toksisitelerine göre yapılır.

#### Ana sınıflar:

- Çok zehirli
- Zehirli
- Zararlı
- Aşındırıcı
- Tahriş edici

Diğer test kategorilerinde uygun olmayan özellikler gösteren maddeler (tekrarlı denemeler, kanserojen, üreme toksisitesi gibi) akut toksisitesi çok düşük olsa da zararlı veya zehirli sınıfına sokulabilir.

Yukarıdaki sınıflara ait tehlike işaretleri (Şekil 10)'da gösterilmiştir.

En son olarak da EC bütün toksikolojik bulguların özet olarak verilmesini ve günlük alınabilir doz (ADI) için öneride bulunulmasını istemektedir (Tablo 13).

Ürünlerin yenilebilir kısımlarındaki güvenilir rezidü miktarlarını saptayabilmek için yetkililer bütün hayat süresince gün be gün alınarak tolere edilebilecek miktarları bilmek zorundadırlar. ADI ve toleransların hesaplanması (Tablo 14)'te top- lanmıştır.

Özellikle bütün çalışmalarda gözlenemeyen en düşük seviyeye bakılır ve genellikle kronik beslenme çalışmalarındaki en düşük rakam seçilir. Bazı türlerde değişik NOEL'ler saptandığından; en hassas cinsiyet için en düşük olanı seçilir. Güvenilir (emin) doz deneme hayvanlarının vücut ağırlıklarına göre mg/kg'a dönüştürülür ve bir güvenlik faktörü ile çarpılır. Bu genellikle 100'dür. Böylece insanlarda günlük alınabilir miktar (ADI) saptanmış olur.

İnsanoğlunun en hassas test hayvanından 10 defa daha hassas olduğu düşünülebilir ve insanlar içerisinde bazı bireyler veya sınıflar ortalama insana göre (hasta, çok genç, çok yaşlı şahıslar, genetik bozuklukları olanlar vs.) 10 misli daha hassas olabirler.

Yukarıda belirtilen ADI (günlük alınabilir miktar) değerleri ortalama bir insanın vücut ağırlığı ile çarpılarak bir şahsın günlük alabileceği maksimum miktarlar bulunmuş olur. Bu için modern pratiğinde değişik ülkelerde ruhsatlandırma yetkilileri bu miktarları değişik insan gruplarına (çocuk, yetişkin vs.) göre hesaplarlar. Tolere edilebilen miktarların mukayesesinde de, muhtemel rezidü miktarları verilirken yeme alışkanlıkları da dikkate alınır. Yeme alışkanlıkları sadece sınıflara göre değil, ülkeden ülkeye göre de değişir.

Ülkesel maksimum rezidü limitleri belirlenirken bu ülke insanların tipik yeme alışkanlıkları dikkate alınmalıdır. İstatistik olarak hesaplanan rakamlar pratikte de tahkik edilir, böylece değişik gıdalar için günlük alınabilir maksimum miktarlar hesaplanır. Açıkçası ortalama patates tüketimi yüksek olan Almanya için, az patates tüketimi olan Japonya'ya nazaran MRL (Maksimum Rezidü Limiti) çok daha düşük olmalıdır.

Pratikte Maksimum Rezidü Limiti usulüne uygun kullanılmak kaydı ile uygulama ile hasad arasındaki sürede tarım ilacının parçalanması dikkate alınır.

Pazarlanan gıdalardaki rezidü limitleri ve ülke nüfusunu temsil eden grupların yeme alışkanlıkları, zirai ilacın maksimum alınabilir miktarı (ADI X vücut ağırlığı) ile karşılaştırılır. Bu karşılaştırma güvenli tarafta çıkarsa yetkililer maksimum rezidü limitlerinin kriterlerini ve o ülke için resmi toleransları saptarlar.

**TABLO 15 - PAZARLANAN TARIM İLAÇLARI İLE İLGİLİ 15 TEMMUZ 1991 TARİHLİ KONSEY DİREKTİFİ**

7. Zirai mücadele ilaçları üzerindeki toksikolojik çalışmalar.
  - 7.1. Akut toksisite
    - 7.1.1. Ağızdan
    - 7.1.2. Deri altına
    - 7.1.3. Solunum
    - 7.1.4. Deri ve ilgili olduğu yerde göz tahrişi
    - 7.1.5. Deri hassasiyeti
    - 7.1.6. Uygun görüldüğü yerlerde yetkililerin isteklerine bağlı olarak zirai mücadele ilaç kombinasyonları için akut dermal toksisite, deri ve gözde tahriş
  - 7.2. Uygulayanların maruz kalması
    - 7.2.1. Deri yolu ile alınan
    - 7.2.2. Tarla şartlarında uygulayıcının maruz kalma ihtimali. Bununla ilgili kantitatif analizler dahil olmak üzere
    - 7.2.3. Aktif olmayan maddeler için mevcut toksikolojik bilgiler.

**TABLO 16 - TARIM İLAÇLARININ PAZARLANMASI İLE İLGİLİ 15 TEMMUZ 1991 TARİHLİ KONSEY YÖNETMEĞİ**

12. Tarım ilaçları ile ilgili daha detaylı bilgiler.
  - 12.1. Diğer memleketlerdeki (otorizasyon) yetkiler üzerine bilgiler.
  - 12.2. Diğer ülkelerdeki tesis edilmiş MRL limitleri
  - 12.3. 67/548/EEC v 78/631/EEC direktifleri ile alakalı olarak ilaçların sınıflandırılması ve etiketlendirilmesi hususlarında teklifler
    - Zarar dereceleri
    - Tehlike işaretleri
    - Risk cümleleri
    - Emniyet cümleleri
  - 12.4. 15 (1), (g) ve (h) ve teklif edilen etiketle ilgili olarak risk ve emniyet cümleleri ile ilgili teklifler.
  - 12.5. Ambalaj hususunda teklif

**TABLO 17 - MARUZ KALMA**

**KONSANTRELERE DOKUNMADA FORMÜLASYON ŞEKİLLERİN ETKİSİ**

	Ağızdan	Deriden	Solunumla
SIVI	-	+++	-
TOZ	(+)	+	++
GRANÜL	-	-	-

**TABLO 18 - UYGULAYICI SAĞLIĞINI GÜVENALTINA ALMANIN PRENSİPLERİ (Alman modeli)**

Uygulayıcının tolere edebileceği maruz kalmanın tayini Bu husus aşağıdaki hususları belirgin zirai mücadele ilaçlarına uygulanabilir:

- Belirgin toksisite birikiminden arı
- Üreme, mutajenisite ve onkojenisite kanıtı göstermeyen
- Hassasiyet ve tahriş özelliği olmayan

Tolere edilebilen deriden maruz kalma

$$D_{tol} = \frac{NOEL_D \times 70}{25} \text{ or } D_{tol} = \frac{NOEL_O \times 70}{AF \times 25} \text{ mg/şahıs/gün}$$

AF'nin deriden maruz kalma faktörü olduğu yerde Tolere edilebilen solunum yolu ile maruz kalma

$$I_{tol} = \frac{NOEL_I \times 70 \times 270}{25} \text{ mg/şahıs/gün}$$

Uygulama süresince teneffüs edilebilen partiküllere maruz kalma küçükse veya mevcut değilse formül şöyle olur

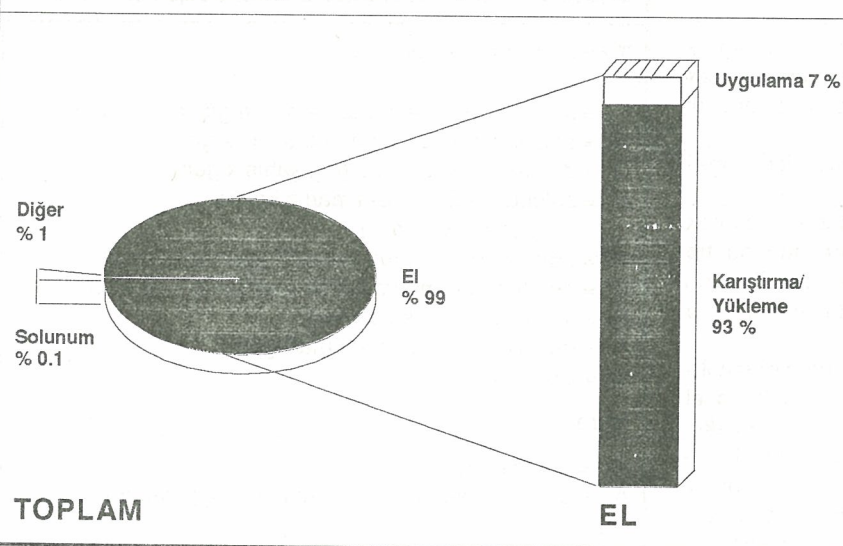
$$O_{tol} = \frac{NOEL_O \times 70}{25} \text{ mg/şahıs/gün}$$

**TABLO 19 - GÜNLÜK UYGULAMA ALANI**

	Yüksek bitkiler		Tarla bitkiler
	Traktörlere monte edilen ekipmanlar	İnsan gücü ile kullanılan ekipmanlar	
A (gün/ha)	8	1	20

**Şekil 14. Maruz Kalma**

Karıştırma / Yükleme ve Uygulama Esnasında (Sıvı Formülasyon)



## TARIM İLAÇLARI İLE İLGİLİ TOKSİKOLOJİK ÇALIŞMALAR

Tarım ilaçlarını kullananlar normal olarak fasıllarla ilaca maruz kalırlar (senenin belli günleri ve haftaları) ve insanlar aktif maddeye değil formüle edilmiş hazır ilaca maruz kalırlar.

Bu nedenle akut ve subakut çalışmalardan kaynaklanan kısa süreli etkiler ilk sırada gelir. Bütün toksikolojik çalışmaların kullananların riskini saptamada payları vardır.

Tarım ilaçları imalatında kullanılan yardımcı maddelerin kendi toksisiteleri ve taşıyıcı olarak ilacın toksikolojik özellikleri üzerinde önemli etkileri vardır.

**Örnek:** Formülasyonda kullanılan yardımcı maddelere bağlı olarak, püskürtülen ilaç veya tozlar deriye nüfuz edebilir ve solunabilir.

Testler ilaçları kullanacaklar için muhtemel riskler oluşabileceği fikrinden kaynaklandığı için, formüle edilmiş ilacın akut toksisitesine uygulayıcıların hangi yollarla maruz kaldığı ile ilgilidir. Bu nedenle çalışmalar ağızdan, deri ve solunum yolu ile akut toksisite, derinin lokal tahrişi ve ilgili olduğu yerde mukoza membranlarını içerir (Tablo 15).

Yeni yönergeler her yeni ilaç için deri hassasiyet testlerini istemektedir. Hiçbir formülasyonda bu tür çalışmalar yapılmamış ise özellikle istenmektedir. Allerji testleri sadece aktif madde için istenmektedir. Buehler Patch Testi tercih edilmektedir.

Katalog'un 7.2. maddesi uygulayıcının maruz kalması ile ilgilidir. Kural olarak ilk etapta standart bir model kullanarak, beklenen ve tolere edilen maruz kalma bununla karşılaştırılır.

Dermal absorpsiyon çalışmaları da bu şartlar altında istenmektedir. Genellikle gerektiği yerlerde deri absorpsiyon çalışmaları formüle edilmiş ilaçla yapılır ve vitro şartlarda alınan sonuçlar aktif madde ile alınan sonuçlarla karşılaştırılır.

Tahmin edilen ve tolere edilebilen maruz kalma arasındaki sınırlar çok dar ise ve dermal absorpsiyon çalışmaları ek bir güvenlik faktörü getirmiyorsa, yetkililer pratik şartlarda deneysel olarak uygulayıcı maruz kalma çalışması yapılmasını isteyebilirler.

Bitki koruma ilaçları ile ilgili diğer istekler Tablo 16'da özetlenmiştir. Bunlar sınıflandırma ve etiketleme ile ilgili teklifler kadar yetki hususunda genel bilgiler ve diğer ülkelerdeki maksimum rezidü limitlerini kapsar.

## TARIM İLAÇLARINDA RİSK TAYİNİ

Bildirim son kısmı uygulayan/kullanıcılar için risk miktarının tayini ile ilgili idi. Biz tarım ilaçları için toksisite ve maruz kalma üzerinde bilgi sahibi olabiliriz. Bundan sonra tehlike hakkında açık ve net bir fikrimiz olur ve bunun kabul edilebilir olup olmadığı hakkında karar verebiliriz.

Bir ilaca maruz kalma genellikle deri yolu ile bir dereceye kadar da solunum yolu ile olur. Ağız yolu ile maruz kalmanın önemli bir rolü yoktur. Bir ilacı karıştırırken ve püskürtürken önemli miktarda irice damlalar ve partiküller havaya karışır, nefes alınırken bu damlalar burunda ve boğazda kalır. Bu hallerde solunum yolu ve ağız yolu ile maruz kalmayı ayırt etmek gerekir. Spesifik solunum yolu ile maruz kalma partikül spektrumuna ve spesifik ağız yolu ile maruz kalmaya göre belirlenmelidir.

Tablo 17'de gösterildiği gibi sulandırılmamış değişik tipte ilaçların özel taşıma yollarına göre maruz kalma potansiyelleri arasında büyük farklar vardır. 50 µm'den küçük partiküller içeren ince tozların belli miktarda solunum yolu ile ve nemli derilerde deri yolu ile maruz kalma riski vardır.

Konsantre likit formülasyonlar (akıcı konsantreler) ilaçlama aleti deposuna konulurken veya kapağı açılırken bazı akma ve sıçramalar olabilir. Şişelerin dizaynına bağlı olarak (şişelerin boyun kısmının dar olması gibi) ilaçlama aletine boşaltılırken etrafa sıçrayabilir.

Diğer taraftan likit formülasyonların teknik maddelerinin düşük gaz basıncı ve püskürtme esnasındaki damla büyüklüklerinin uygunluğu nedeni ile solunum yolu ile nadiren risk oluşturur.

Dıştan bulaşmaların normal dağılımı neye benzer? Bağ-bahçe bitkileri ile tarla bitkileri arasındaki ana fark uygulamada ortaya çıkar (Şekil 11). Uygulamada ilacın karıştırılması ve doldurulması ve aynı zamanda püskürtme esnasında farklar vardır.

Kısa boylu (tarla bitkileri) ürünlerdeki maruz kalmanın dağılımını göstermektedir. Ana bulaşmanın deri yolu ile olduğu açıkça görülmektedir ve büyük bölümü de eller yoluyla (Şekil 12).

Yüksek boylu ürünler (meyve / bağ / sera bitkileri) ilaçlanırken deri yolu ile maruz kalma kısa boylu ürünlere göre yüksektir. Deri yolu ile maruz kalmanın dağılımı biraz değişik olmakla beraber normal hava ve uygulama şartlarında pek çok ürün için solunum yolu ile maruz kalma o kadar önemli değildir (Şekil 13, 14).

Şimdiye kadar formüle edilen ilaçların toksisitelerini, maruz kalma yollarını ve ihtimallerini tartıştık.

İkinci adım uygulayıcı için olan tehlikeyi değerlendirmek üzere ikisini kombine etmektir. Dünya genelinde bu tip değerlendirmeler için model yaklaşımlar vardır. Ben bu prosedürde örnek olarak Alman modelini anlatacağım (Tablo 18).

**Birinci adım** kullanım şartları ile ilgili olarak **tahmini tehlikenin** hesaplanmasıdır. Her uygulama şekli için günlük özel çalışma alanı tarif edilmiştir (Tablo 19). Formülasyon şekli, ürün çeşidi ve hektara kullanılan aktif madde miktarı biliniyorsa, deri yolu ve solunum yolu ile maruz kalma tahmini yapılabilir. Aşağıdaki formül kullanılarak, püskürtme esnasında eller için deri yolu ile maruz kalma hesaplanabilir.

	Likid		Katı 1)			
	Traktörle 2)	elle 3)	WP		WG	
			Traktörle	elle	Traktörle	elle
I* M 4)	0.0006	0.05	0.07	0.8	0.008	0.02
D* M (H) 4)	2,4	205	6.0	50 5)	2.0	21

	Traktöre bindirilmiş Ekipman	Elle kullanılan ekipman	Tarla Bitkileri 7)
I* A 4)	0.018	0.3	0.001
D*A(C) 4)	1.2	4.8	0.06
D*A(H) 4)	0.7	10.6	0.38
D*A(B) 4)	9.6	25.0	1.6

Açıklamalar:

- 1) Ek 1'den alınan takribi değerler
- 2), 3) Tablo 1'e bakınız
- 4) mg/şahıs x kg a. i. olarak
- 5) Tahmini bölgesel değer
- 6), 7) Tablo 1'e bakınız

TABLO 21 - TARİFELER/KISALTMALAR/İŞARETLER

**Tarifler ve kısaltmalar:**

- I = solunum yolu ile maruz kalma (mg/şahıs x gün)
- O = ağızdan maruz kalma (mg/şahıs x gün)
- D = deriden maruz kalma (mg/şahıs x gün)
- I\* = solunum yolu ile özel maruz kalma (mg/şahıs x kg a. i.)
- O\* = ağızdan özel maruz kalma (mg/şahıs x kg a. i.)
- D\* = deriden özel maruz kalma (mg/şahıs x kg a. i.)
- R = kullanılan doz (kg a.i./ha)
- A = günlük uygulama alanı (ha/NGün)
- a.i.= aktif madde

**İşaretler**

- M = ilacın karıştırılması
- A = püskürtmeye hazır sıvı karışımın uygulanması
- (H) = eller
- (C) = baş (boynun önü ve arkası dahil)
- (B) = normal giyimli bir uygulayıcının bedeni

TABLO 22 - UYGULAYICI SAĞLIĞINI GÜVENALTINA ALMANIN PRENSİPLERİ (Alman modeli)

**Tahmin edilen ve tolere edilebilen maruz kalmanın karşılaştırılması**

Risk tahmini; tahmin edilen maruz kalma ve tolere edilebilen maruz kalmanın karşılaştırılması esasına dayanır.

$$E = \frac{D}{D_{tol}} + \frac{I}{I_{tol}} + \frac{O}{O_{tol}}$$

Bedenin değişik yerlerine ve çalışma basamaklarına göre yukarıdaki formülü bölümlere ayırmak yararlı olabilir.

$$E = \frac{D_{M(H)}}{D_{tol}} + \frac{D_{A(B)}}{D_{tol}} + \frac{D_{A(H)}}{D_{tol}} + \frac{D_{A(C)}}{D_{tol}} + \frac{I_M}{I_{tol}} + \frac{I_A}{I_{tol}}$$

Maruz kalmanın derecesi 1'den fazla ise E'yi düşürmek için ilave korunma önlemleri alınmalıdır.

$$DA(H) = D^*A(H) \times R \times A$$

D\*A (H) tablodan alınan spesifik bir değerdir (Tablo 20). R = uygulama dozu, A = günlük ilaçlanan alan.

Tablo 21: Tabloda kullanılan tarif ve kısaltmaları göstermektedir. Deri yolu ve solunum yolu ile maruz kalma değişik uygulama şartlarında ve değişik çalışma kademelerinde karşılaştırılır. Bitki koruma endüstrisinin kapsamlı deneme sonuçları ortalama değerlerdir.

Spesifik olarak deri yolu ile maruz kalmada rakamlar deri üzerindeki aktif madde miktarını ifade etmektedir. Elbiseye penetre olmuş veya doğrudan korumasız derinin maruz kalması şeklinde tezahür eder. Deri yolu ile toplam maruz kalma hesaplanırken kullanıcının kısa kollu gömlek, kısa pantolon, normal iç çamaşırı ve ayakkabı giydiği kabul edilir.

Tahmin edilen maruz kalmaya paralel olarak, uygulamada tolere edilebilen maruz kalma durumu ortaya çıkmaktadır. Normal olarak deri yolu ve solunum yolu için maruz kalma yolları ayrı ayrı hesaplanmalıdır ve bu hesaplamalarda NOEL değerleri temel olmalıdır. NOEL belirlemesi hayvanlarda yapılan çalışmalarda 3-4 hafta sürer, tekrarlı uygulamalarda

Şekil 15. Bir tarım ilacının gelişimi

											Masraflar (Milyon DM)	
Kimya	Etkili madde	Sentez		Sentez optimizasyonu	Yöntem geliştirme	Deneme üretimi	Üretim (1. satış)	80	Formülasyon	Formülasyonun optimizasyonu		
Biyoloji	Araştırma	Laboratuvar/Sera		Küçük parsel denemeleri	(Geliştirme)	Tarla denemeleri	(Ruhsat)	70	Geliştirme	Resmi Kontrol	Ruhsata esas biyolojik deneme	
Toksikoloji	Sıcak kanlılar	Akut, subkronik, kronik toksisite, mutajenisite		Kanserogenite, Teratojenite		Balık / Kuş / Mikroorganizma / Faydalı Artropodlar	Ruhsata esas belgelerin resmi kontrolü	100	Çevre	Ayırma durumu	Bitki/Hayvan Toprak / su	
Çevre	Kalıntı durumu	Bitki/Hayvan Toprak / su										
Yıl	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	250 milyon DM
kimy. md.	40.000	500	10	3	2	1	1	1	1	1	1	

9/92

tesis masrafları hariç



hiçbir etki göstermeyen aktif madde miktarıdır. Buna ilaveten aktif madde için spesifik teratojenik, mutajenik ve kanserojen etkiler için bir güvenlik faktörü (25) ve şahıslar için 70 kg'lık bir vücut ağırlığı dikkate alınır.

Deri yolu ile yapılan çalışmalarda NOEL rakamları elde yoksa, deri yolu ile tolere edilebilen maruz kalma, subkronik beslenme çalışmalarından elde edilen NOEL rakamlarının dermal absorpsiyon faktörü ile düzeltilmesi sonucu elde edilebilir.

Ağız yolu ile tolere edilebilen maruz kalma, ancak uygulama esnasında solunabilir partiküllere maruz kalma çok küçükse veya hiç yoksa hesaplanacaktır. Fakat damla büyüklüğü ve partiküllerin karakteri nedeni ile burun ve gırtlak yolu ile indirek bir şekilde ağız yolu ile alınma gündeme gelebilir (Tablo 22-23). Uygulayıcı için tolere edilebilen maruz kalmanın hesaplanması ve tarifleri içermektedir.

Tahmin edilen ve tolere edilebilen maruz kalma ile ilgili bilgiler elde edilince risk analizi yapılabilir. 24 nolu tabloda gösterilen formüle göre bütün fraksiyonların sonradan yapılan ilaveleri ile birlikte toplam maruz kalma derecesini E verir. Toplam maruz kalma derecesi 1'i geçiyorsa E'yi düşürmek için ek önlemler almak gerekir. Bu kısım 19 nolu tabloda risk tahmini olarak belirlenmiştir.

**TABLO 23 - TARİFELER/KISALTMALAR/İŞARETLER**

$D_{tol}$	= tolere edilebilen deri yolu ile maruz kalma (mg/ (şahıs x gün))
$I_{tol}$	= tolere edilebilen solunum yolu ile maruz kalma (mg/(şahıs x gün))
$O_{tol}$	= tolere edilebilen ağız yolu ile maruz kalma (mg/(şahıs x gün))
NOEL <sub>D</sub>	= hayvanlarla yapılan çalışmada tolere edilebilen, zararsız doz (mg/(kg b.w. x gün))
NOEL <sub>I</sub>	= solunum yolu ile yapılan çalışmada hayvanların tolere edebildiği zararsız doz (mg/1)
NOEL <sub>O</sub>	= ağız yolu ile yapılan çalışmada hayvanların tolere edebildiği zararsız doz (mg/(kg b. w. x gün))
BW	= vücut ağırlığı
AF	= absorpsiyon faktörü

Vücudun bölümlerine ve çalışma kademelerine göre formüldeki bölümler alt bölümlere ayrılabilir. Bu takdirde ilgili yerleri belirlemek ve ilave tedbirler almak kolaydır. İlaç üreticileri, çiftçiler ve yetkililer konuyu tartışarak değişik ihtimalleri de gündeme getirebilirler (uygulama dozunun düşürülmesi, uygulama tekniğinin değiştirilmesi, formülasyon şeklinin değiştirilmesi vs.)

Yeni bir zirai mücadele ilacının geliştirilmesi uzun, komplike ve pahalı bir işlemdir. Başka hiçbir grup kimyasal toksikoloji ve çevre yönünden bu kadar kapsamlı incelenmemektedir. Bütün bu işler, ruhsatlandırma dahil 8-10 senelik bir zamanı kapsamaktadır. Pazarlandığında patent süresinin bitimine az bir zaman kalmaktadır (Şekil 15).

Aktif madde ile yapılan toksikoloji testleri 12-13 milyon DM (Alman markı)'na malolmaktadır. Buna diğer çalışmalar dahil değildir. Yeni bir aktif geliştirme için bu paranın harcanması gereklidir.

Yeni bir aktif geliştirme için bu paranın harcanması gereklidir.

Yeni bir aktif geliştirme için bu paranın harcanması gereklidir.

**Şekil 16 - Pestisitlerin hayat hikayesi**

