

8 de junio de 2012

GUÍA PARA LA REALIZACIÓN DE ESTUDIOS DE BIOEQUIVALENCIA PARA MEDICAMENTOS VETERINARIOS



Guía nº 4

AUTORES

Participaron en la confección de la guía las instituciones representadas por las siguientes personas (aparición según orden alfabético):

- **Dr. Jorge Errecalde** (Universidad Nacional de La Plata - UNLP - Profesor Titular de Farmacología, Facultad de Ciencias Veterinarias y Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad Nacional de La Plata. Académico, Academia Nacional de Agronomía y Veterinaria).
- **Dr. Juan Martín Etchegoyen** (Cámara de Laboratorios Argentinos Medicinales Veterinarios - CLAMEVET).
- **Dr. Enrique A. Formentini** (Universidad Nacional del Litoral - UNL - Profesor Adjunto de la Cátedra de Farmacología y Director del Laboratorio de Farmacología y Toxicología de la Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Litoral).
- **Dr. Carlos Francia** (Cámara Argentina de la Industria de Productos Veterinarios - CAPROVE).
- **Dr. Juan Walter Ostermann** (Cámara Argentina de la Industria de Productos Veterinarios - CAPROVE).
- **Dr. Sergio F. Sánchez Bruni** (Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires - UNCPBA - Profesor Asociado Laboratorio de Farmacología de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Bs. As. – Tandil. Investigador independiente del CONICET).
- **Dra. Laura C. Sbordi** (Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria - SENASA - Supervisora Técnica de la Dirección de Productos Veterinarios y Alimentos para Animales. Dirección Nacional de Agroquímicos, Productos Veterinarios y Alimentos).
- **Dr. Esteban Turic** (Cámara Argentina de la Industria de Productos Veterinarios - CAPROVE).

Coordinación del grupo a cargo del Dr. Javier Pardo (Fundación PROSAIA).

Tabla de contenidos

Prólogo	3
1. Introducción	5
2. Definiciones	5
3. Alcances y objetivos de los estudios de Bioequivalencia	6
4. Casos en los que no es necesario realizar ensayos de bioequivalencia.....	7
5. Diseño de estudios de bioequivalencia de dosis única.....	8
6. Diseño de estudios de bioequivalencia de dosis múltiples.....	11
7. Análisis estadístico de ensayos de bioequivalencia	12
8. Bibliografía	15

Prólogo

PROSAIA: La Seguridad Alimentaria y la producción de productos farmacéuticos veterinarios.

“Animales sanos, alimentos sanos, gente sana”.

La Argentina como productora de alimentos de calidad afronta entre otros desafíos el acecho de enfermedades infecciosas emergentes y re-emergentes que, debido a los cambios culturales ocurridos en el mundo en los últimos años, se hallan en continua expansión (BSE, Influenza Aviar, Nipah, West Nile Fever, Rift Valley Fever entre otras). Muchas de estas son zoonosis, lo que ha ocasionado cambios muy profundos en los sistemas de garantías exigidos por las autoridades sanitarias, entre las cuales la seguridad sanitaria de los alimentos es un requisito indispensable. Para alcanzar la seguridad alimentaria de los alimentos es necesario, entre otras condiciones, disponer de productos farmacéuticos veterinarios y biológicos de seguridad y pureza probadas que garanticen, junto con su correcta aplicación, que los productos y subproductos obtenidos de los animales se conviertan en alimentos que no sean causantes de enfermedades por la presencia de contaminantes o agentes patógenos, en forma involuntaria -inocuidad- o deliberada -bioterrorismo- y contribuir así a preservar la salud y protección de los consumidores.

Para eso existen principios fundamentales que se deben tener en cuenta en la formulación de los insumos para los animales de abasto incluidos los alimentos y los productos farmacológicos. Estos principios incluyen el control de la fuente, la manipulación de los materiales utilizados y el diseño de un sistema de elaboración adecuado que contemple:

La normativa, recomendaciones y estándares nacionales e internacionales.

Este es un aspecto primordial que deben cumplir todos los productos farmacéuticos veterinarios ya que, de no ser así, se corre el riesgo de que los productos y subproductos obtenidos de los animales tratados queden fuera de los mercados.

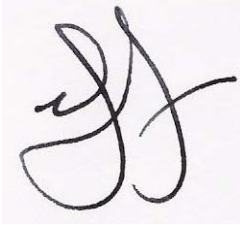
Las Buenas Prácticas de Manufactura.

“Buenas Prácticas de Manufactura es aquella parte del aseguramiento de la calidad que garantiza que los productos sean consistentemente producidos y controlados de acuerdo a los estándares de calidad apropiados al uso al que están destinados y según lo requiera su autorización de comercialización.” WHO Good Manufacturing Practices for Pharmaceutical Products.

Por lo tanto, mantenerse y desarrollar un negocio competitivo como proveedores de alimentos dentro de este contexto presupone además cumplir con los requisitos implícitos y explícitos que los consumidores demandan. Entre esos requisitos los atributos de inocuidad involucran la aplicación de sistemas de aseguramiento de la calidad tales como Buenas Prácticas Agrícolas, Buenas Prácticas de Manufactura, HACCP, determinación de niveles o ausencia de residuos, de pesticidas, de antibióticos, garantía de que los productos farmacológicos utilizados en el control de las enfermedades de los animales cumplen con las normas internacionales.

Dentro de este marco de referencia y en cumplimiento de los objetivos de su creación, PROSAIA convocó a los principales referentes en la materia del organismo regulador SENASA, la Academia y las cámaras representativas a conformar un Grupo Ad-Hoc para

la Redacción y Actualización de Guías, Protocolos y Normativas para el Correcto Desarrollo de Productos Veterinarios, como un aporte para la adecuación a los tiempos que vivimos.

A stylized, cursive handwritten signature in black ink on a light pink background. The signature consists of several loops and a long horizontal stroke extending to the right.

Dr. Carlos Van Gelderen

A cursive handwritten signature in black ink on a light pink background. The signature is more fluid and less structured than the one to its left, with a prominent horizontal stroke at the bottom.

Dr. Alejandro Schudel

REALIZACIÓN DE ESTUDIOS DE BIOEQUIVALENCIA PARA MEDICAMENTOS VETERINARIOS

1. INTRODUCCIÓN

Para ejercer una acción terapéutica óptima, un ingrediente activo debería ser liberado en el sitio de acción en una concentración efectiva durante el período deseado. Para poder realizar una predicción confiable del efecto terapéutico, el desempeño de la forma de dosificación que contiene el ingrediente activo debe estar bien caracterizado.

Varios fallos terapéuticos asociados a diferencias en biodisponibilidad ocurridas en el pasado, atestiguan la necesidad de evaluar el desempeño de las formas de dosificación en el transporte del ingrediente activo a la circulación sistémica y de allí al sitio de acción. Así, la biodisponibilidad de un ingrediente activo de un producto farmacéutico debería ser conocida y reproducible. Si se asume que en el mismo sujeto un perfil de concentración plasmática en función del tiempo resultará en concentraciones esencialmente similares en el sitio de acción y, por ende, tendrá un efecto esencialmente similar, se puede utilizar la información farmacocinética, en vez de los resultados terapéuticos, para establecer equivalencias: bioequivalencias.

En la práctica, la evidencia de bioequivalencia es generalmente la prueba más apropiada para sustanciar la equivalencia terapéutica entre productos medicinales.

El objetivo de esta guía es formular requerimientos para el diseño, realización y evaluación de estudios de bioequivalencia. También se considera en el Apéndice I la posibilidad de emplear estudios *in vitro* complementarios.

2. DEFINICIONES

2.1 Equivalente farmacéutico:

Dos especialidades medicinales son equivalentes farmacéuticos si contienen la misma cantidad de principio activo en la misma forma farmacéutica, están destinados a ser administrados por la misma vía y cumplen con estándares de calidad idénticos o comparables. Sin embargo, la equivalencia farmacéutica no necesariamente implica equivalencia terapéutica, ya que diferencias en los excipientes y/o en el proceso de elaboración, pueden generar una disolución o absorción más rápida o más lenta, lo que puede determinar disparidades en el comportamiento de los productos (OMS).

2.2 Alternativa farmacéutica:

Productos que dentro del concepto de producto similar contienen el mismo principio terapéutico, siendo diferente la salificación, esterificación o complejación del mismo, y/o se presentan en diferentes formas farmacéuticas o concentraciones por unidad de administración, la misma indicación terapéutica y la misma posología.

2.3 Biodisponibilidad:

La biodisponibilidad se entiende como la tasa y el grado con los que una sustancia activa o su ingrediente activo es liberado desde una forma farmacéutica y se hace disponible a la circulación general.

La biodisponibilidad de un medicamento veterinario se define por la velocidad y magnitud con que la sustancia activa alcanza la circulación sistémica y está disponible en el/los sitio(s) de acción. La velocidad de absorción se mide mediante la magnitud de la absorción (Cmax), el tiempo al cual se alcanza la máxima concentración (Tmax) y el área bajo la curva (AUC).

En la mayoría de los casos, las sustancias han sido desarrolladas para exhibir un efecto terapéutico sistémico, y se puede dar entonces una definición más práctica, tomando en consideración que la sustancia en la circulación general se halla en intercambio dinámico con la sustancia en el sitio de acción.

Puede ser útil diferenciar entre "biodisponibilidad absoluta" de una forma de dosificación dada: la comparada con el 100% obtenible de la administración intravenosa del mismo fármaco (por ej. solución oral versus intravenosa) y la "biodisponibilidad relativa": la comparada con otra forma administrada por otra vía -excepto intravenosa- (por ej. comprimidos versus solución oral).

2.4 Bioequivalencia:

Dos productos medicinales son bioequivalentes si estos son equivalentes farmacéuticos y sus biodisponibilidades (velocidad y cantidad absorbida del principio activo) luego de su administración a la misma dosis molar son similares en tal grado, que sus efectos en lo que respecta a eficacia y seguridad son esencialmente los mismos (European Human Guideline 1991).

Existe bioequivalencia entre medicamentos veterinarios o entre vías de administración si, bajo condiciones experimentales estandarizadas, la velocidad de absorción y la cantidad de sustancia activa absorbida, sólo difieren dentro de límites preestablecidos.

Las sustancias activas a comparar deben tener propiedades fisicoquímicas similares, por ejemplo, perfil de disolución, forma cristalina y tamaño de la partícula. En caso de tratarse de principios activos que se presentan en una mezcla racémica, éstos deberán presentar la misma proporción de isómeros.

La representación gráfica del concepto de bioequivalencia se presenta en la figura 1 del anexo.

2.5 Equivalencia terapéutica:

Un producto medicinal es equivalente terapéutico de otro si contiene la misma sustancia activa o grupo activo y, clínicamente, muestra la misma eficacia y seguridad que el primer producto, cuya eficacia y seguridad ya han sido establecidas.

3. ALCANCES Y OBJETIVOS DE LOS ESTUDIOS DE BIOEQUIVALENCIA

Los estudios de bioequivalencia son métodos científicos válidos para comparar:

3.1 Diferentes productos medicinales veterinarios que son equivalentes farmacéuticos. *Ej: genérico vs producto de referencia. Si se hace referencia comparativa a un producto aprobado en términos de eficacia y/o seguridad, se debe demostrar la bioequivalencia con ese producto. (Dependiendo si la autoridad regulatoria admite la bioequivalencia como una herramienta para el registro de productos genéricos).*

3.2 Diferentes rutas de administración para el mismo producto. *Dos vías de administración son bioequivalentes cuando sus perfiles de concentración plasmática son similares dentro de límites preestablecidos.*

3.3 Un cambio significativo en la manufactura y/o formulación, que pueda afectar la biodisponibilidad de la droga. *Cuando se cambia la especificación, composición o proceso de elaboración de una forma farmacéutica, se debe demostrar que el nuevo producto es bioequivalente con el producto con el que fueron realizados los ensayos clínicos.*

Si bien hay estudios de equivalencia *in vitro* que en algunos casos son suficientes para lograr el objetivo, estos estudios se aplican más a formas farmacéuticas sólidas (ej: comprimidos). Este tipo de estudios son tratados en el Apéndice I.

4. CASOS EN LOS QUE NO ES NECESARIO REALIZAR ENSAYOS DE BIOEQUIVALENCIA

Generalmente no hacen falta estudios de bioequivalencia si el producto cumple con una o más de las siguientes condiciones:

a) El producto es una solución elaborada para ser administrada sólo por vía **intravenosa** y contiene la misma sustancia activa o entidad terapéutica que una solución intravenosa aprobada para el uso en la especie de destino que es sujeto de la nueva solicitud.

b) El producto es una forma de dosificación oral diseñada para no ser absorbida (p. ej., antiácido, medio radiopaco).

c) El producto reúne todas estas condiciones:

- Es una **solución oral**, jarabe u otra forma solubilizada similar de rápida liberación y absorción.
- Es una forma farmacéutica sólida cuya rápida disolución haya sido previamente demostrada y contenga uno o más principios activos altamente solubles y absorbibles.
- Contiene una sustancia activa o entidad terapéutica en la misma concentración que el producto de referencia.
- No contiene sustancias inactivas que puedan afectar significativamente la absorción de la sustancia activa o la entidad terapéutica.

d) El producto es un producto reformulado por el fabricante original y es idéntico al de referencia, excepto por los agentes colorantes, saborizantes o conservantes, que se ha determinado que no tienen influencia en la biodisponibilidad.

e) Soluciones anestésicas volátiles inhalatorias.

5. DISEÑO DE ESTUDIOS DE BIOEQUIVALENCIA DE DOSIS UNICA

Cuando fuera posible se deberá realizar una comparación de un estudio de bioequivalencia *in vivo* de dosis única respecto de los productos o las vías de administración a evaluar en la especie animal de destino. Para conocer ejemplos de cuándo puede ser necesario un estudio de bioequivalencia *in vivo* de dosis múltiples, consultar la sección 6.

5.1 Producto de referencia

El estándar de referencia más apropiado es el primer producto autorizado con un expediente completo. Cuando existen varios productos aprobados, pero con distintas etiquetas, aplicaciones o especies, se debe llevar a cabo una prueba de bioequivalencia con el producto de referencia aprobado para las mismas indicaciones para las que fue diseñado el producto problema (test). Cuando existen varios productos aprobados que contienen la misma sustancia activa pero en distintas concentraciones, la mejor opción del producto de referencia será el que tenga la misma concentración.

El producto de referencia deberá tomarse de un lote vigente de un producto aprobado, que contenga la misma sustancia activa que la nueva formulación, nueva forma de dosificación o sal. Por ejemplo, se considera que diferentes ésteres de la misma entidad terapéutica son productos distintos.

Para un producto dado, una formulación puede servir de referencia para demostrar la bioequivalencia con otras formulaciones que eran parte del desarrollo.

5.2 Vía de administración de referencia

La vía de administración de referencia es la que se empleó al realizar los ensayos clínicos o toxicológicos y a la cual se hace referencia en cuanto a eficacia y seguridad.

5.3 Estándares para productos farmacológicos de prueba y de referencia

Se debe demostrar que tanto el producto de prueba como el de referencia cumplen con todos los estándares incluidos en compendios u otros estándares aplicables de identidad, concentración, calidad y pureza.

5.4 Animales

Los animales utilizados en estudios de bioequivalencia deben estar clínicamente sanos y ser un grupo homogéneo (edad, raza, peso, estado hormonal y nutricional, nivel de producción, etc.). Cuando fuera posible, se recomienda restringir los estudios a un sexo si no hay evidencia de interacción entre sexo y productos. Cuando resulte difícil conservar la homogeneidad de todos los animales dentro del estudio (p. ej., en caballos), será aceptable utilizar ganado no homogéneo, siempre y cuando se haya equiparado a los animales en cada grupo de tratamiento por edad, peso, sexo (si fuera relevante), etc. Eso se deberá realizar mediante aleatorización restringida basada en el/los factor(es) de bloqueo relevante(s).

Los animales seleccionados deben provenir de la población de destino para la cual el producto es concebido.

Tamaño del grupo: la cantidad apropiada de animales debe estimarse cuidadosamente y depende de varios factores, incluida la varianza de la respuesta, diferencias en las dos formulaciones y nivel de rechazo de la hipótesis. El diseño cruzado tiene ventajas respecto de la potencia y la cantidad de

animales necesarios. Se recomienda utilizar un mínimo de 6 animales por grupo para diseño cruzado y 12 animales por grupo para el diseño en paralelo.

5.5 Condiciones del ensayo

La bioequivalencia debe llevarse a cabo bajo prácticas acreditadas (clínicas y de laboratorio).

En el caso de la vía oral, se debe prestar especial atención a los distintos factores que se sabe afectan la disposición de la sustancia activa. La administración de alimento puede mejorar o interferir con la absorción del fármaco, según las características del fármaco y la formulación. La alimentación también puede aumentar la variabilidad inter- o intra-sujeto de la velocidad y la magnitud de absorción del fármaco. El fundamento para realizar cada estudio de bioequivalencia bajo condiciones de ayuno o alimentación debe estar incluido en el protocolo. El protocolo debe describir la dieta y el régimen de alimentación que se seguirá en el estudio. Si la etiqueta del producto de referencia indica que el producto debe administrarse únicamente en ayunas o habiendo recibido alimento, entonces el estudio de bioequivalencia deberá llevarse a cabo de ese modo.

5.6 Dosis que se probará

La dosis debe ser la aprobada.

Cuando el producto de referencia tiene varias dosis aprobadas, la prueba de bioequivalencia se debe realizar con la dosis más alta.

5.7 Recolección de muestras

Las concentraciones de principio activo y/o sus metabolitos activos se podrán determinar en muestras biológicas tales como sangre, suero, plasma y otros fluidos biológicos (ej: leche, orina).

5.8 Diseño experimental

El diseño de todo estudio de bioequivalencia tenderá a reducir al máximo la variabilidad no dependiente de las formulaciones estudiadas; test (T) y referencia (R). El diseño más habitual en un estudio de bioequivalencia es un estudio cruzado de dos secuencias (TR/RT), dos períodos (Período 1/Período 2), dos tratamientos, aleatorizado, con una dosis única en cada período, no replicado y balanceado; todos los animales (en igual número en cada secuencia) deben recibir ambos tratamientos T y R. Este diseño permite evitar posibles confusiones entre los efectos del tratamiento y el período.

El tiempo transcurrido entre la administración de cada dosis de las formulaciones T o R, se denomina período de lavado y el mismo debe ser lo suficientemente prolongado como para que al momento de la segunda administración no se detecten concentraciones del principio activo administrado en el primer período, o éstas sean tan bajas que no tengan ninguna incidencia farmacocinética sobre la nueva administración. El esquema de diseño cruzado clásico se presenta en la figura 2 del anexo.

El período de lavado deberá ser igual en todos los animales y su duración deberá ser de por lo menos diez veces la semivida de eliminación de la sustancia activa o sus metabolitos. Además, se podría requerir un período de tiempo adicional para alcanzar la desaparición de cualquier efecto farmacológico, como por ejemplo la inducción de las enzimas microsomales.

En el caso en que el período de lavado sea incompatible con un diseño cruzado clásico, como en el caso de fármacos con semivida prolongada o cuando los estudios deben realizarse en animales en

crecimiento, se puede recurrir a un diseño paralelo en el que participan dos grupos con idéntico número de animales (grupo 1 y grupo 2), donde un grupo recibe solo una única dosis de un producto distinto del asignado al otro grupo. El esquema de diseño paralelo se presenta en la figura 3 del anexo.

Para las formulaciones que posean un principio activo con alta variabilidad farmacocinética (CV igual o mayor al 30%), y que la formulación presente una semivida de eliminación corta, un modelo posible es el diseño replicado de dos secuencias y cuatro períodos, Secuencia 1: TRTR; Secuencia 2 RTRT. El esquema de diseño replicado de dos secuencias y cuatro períodos se presenta en la figura 4 del anexo.

5.9 Tamaño de la muestra

El número de animales necesarios para realizar un estudio de bioequivalencia está determinado por el nivel de significancia fijado, por la diferencia que se espera detectar, por la potencia esperada del ensayo y por el error de la varianza asociada a la característica primaria a ser estudiada expresado como CV intra-individual. El valor de este último puede obtenerse a partir de los resultados de un estudio piloto, de resultados de estudios realizados con anterioridad o a partir de datos procedentes de la literatura.

El número de animales debe ser calculado mediante métodos apropiados y no debe ser menor a 6 animales por grupo para diseño cruzado y 12 animales por grupo para el diseño en paralelo.

El método de cálculo del número de animales para un modelo multiplicativo (datos transformados a sus logaritmos naturales) se presenta en la ecuación 1 del anexo. Este método de cálculo permite estimar el número de individuos para un diseño cruzado clásico en función de varios valores de CV, de valores del cociente entre las medias geométricas (μ_T/μ_R) de los parámetros farmacocinéticos empleados y de la potencia esperada del método estadístico ($1-\beta$). Para un diseño paralelo este valor debe ser multiplicado por 2.

El test estadístico para demostrar bioequivalencia debe poseer una potencia no menor al 80%, con un riesgo para el consumidor del 5% (error α ; 0,05) y un riesgo para la industria farmacéutica del 20% (error β ; 0,20). Dado que la potencia se estima como $1-\beta$, el riesgo para la industria farmacéutica puede reducirse incrementando la potencia del test estadístico, lo que se logra incrementando el número de animales a incluir en el estudio. En la Tabla 1 del anexo, se presentan los números de individuos necesarios para realizar un estudio de bioequivalencia en función de diferentes valores de potencia del test estadístico, diferentes valores de CV y diferentes cocientes entre las medias geométricas de los parámetros farmacocinéticos fundamentales.

5.10 Consideraciones del tiempo de muestreo

Los tiempos de muestreo deben ser elegidos de modo que permitan, en la medida de lo posible, describir el perfil de concentración plasmática del principio activo y permitir una determinación precisa de la T_{max} y la C_{max} .

Para maximizar la eficacia del tiempo de muestreo, puede ser necesario realizar un estudio piloto que ayude a identificar la forma de la curva de concentración/tiempo y la variabilidad probable en los valores de concentración.

5.11 Análisis

Los métodos analíticos empleados en estudios de bioequivalencia deben estar completamente validados para cumplir con los criterios de validación estándar dados en la guía de “Validación de los métodos analíticos utilizados en matrices biológicas” (Guía PROSAIA n° 2)

6. DISEÑO DE ESTUDIOS DE BIOEQUIVALENCIA DE DOSIS MÚLTIPLES

6.1 Principios básicos

En algunos casos, es necesario comparar el producto Test con el de Referencia luego de administraciones repetidas, a fin de determinar las concentraciones plasmáticas durante el estado de equilibrio estacionario. Esto puede suceder en el caso de principios activos muy potentes que provocan efectos farmacéuticos a concentraciones plasmáticas muy bajas que se encuentran por debajo de la resolución de la técnica analítica. Con el avance de las técnicas analíticas, estas situaciones se dan en casos excepcionales.

Se requiere un estudio de dosis múltiples cuando:

- a) La acción del producto es dependiente de las concentraciones plasmáticas del principio activo en estado estacionario.
- b) El principio activo presenta cinética no lineal y/o dependiente del tiempo.
- c) La concentración de la sustancia activa que resulta de una dosis única es demasiado baja para ser determinada con precisión a través del método analítico.

6.2 Producto de referencia y condiciones experimentales

Como se estableció previamente.

6.3 Dosis

La selección de la dosis de los productos Test y Referencia se definirán según lo explicitado en el punto 5.6.

6.4 Frecuencia de administración

Se debe seleccionar la frecuencia de administración que dé como resultado las mayores concentraciones del fármaco en estado estable (C_{ss}). Esto se podrá determinar mediante un estudio piloto.

6.5 Recolección de muestras

Se deben tomar muestras para establecer que se alcanzaron condiciones de equilibrio estacionario (p. ej., midiendo dos o más concentraciones máximas (C_{max}) o mínimas (C_{min}) en sangre, plasma o suero o recolectando aproximadamente 10 muestras de sangre (incluso inmediatamente antes de la administración de la siguiente dosis) durante el intervalo de dosis.

6.6 Diseño experimental

La biodisponibilidad puede ser determinada en condiciones de estado de equilibrio estacionario sin necesidad de un período de lavado entre la administración de las formulaciones Test y Referencia.

En este tipo de ensayo, se cuenta con un solo grupo de animales y ambas formulaciones Test y Referencia serán administradas a cada uno de ellos guardando un intervalo entre dosis preestablecido, hasta alcanzar el estado de equilibrio estacionario (E_{ss}).

El número de dosis que deben ser administradas para alcanzar el E_{ss} está determinado por el tiempo fijado como intervalo entre dosis (τ) y por la semivida de eliminación de la formulación. Se acepta que el E_{ss} se alcanza cuando se han administrado las dosis preestablecidas durante un tiempo equivalente a 4-5 veces el valor de la semivida de eliminación de la formulación. En esas condiciones, el ABC estimada a partir de la administración realizada tras alcanzar el E_{ss} ($ABC_{R,SS 0-\tau}$) es igual a la que se estimaría luego de la administración de una única dosis de la formulación ($ABC_{R 0-\infty}$). Seguidamente a la administración de la última dosis de la formulación Referencia, se comienza a administrar las dosis de la formulación Test a los intervalos preestablecidos durante el tiempo necesario para que se alcance un nuevo E_{ss} . Al alcanzarse esa condición, se estima el ABC obtenida a partir de la última dosis administrada de la formulación Test ($ABC_{T,SS 0-\tau}$). La representación gráfica del diseño experimental para demostrar bioequivalencia mediante la administración de dosis múltiples se presenta en la figura 5 del anexo.

7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE ENSAYOS DE BIOEQUIVALENCIA

7.1 Parámetros farmacocinéticas a analizar

Se deben analizar los parámetros farmacocinéticos derivados de las curvas de concentración del principio activo en la matriz biológica en que se haya determinado. A fin de evitar un posible sesgo, el cálculo de los parámetros fundamentales debe estar basado en los datos experimentales observados, evitando el uso de datos estimados por cualquier procedimiento matemático. Excepcionalmente, la utilización de datos estimados por modelización farmacocinética, interpolación u otros procedimientos deberá estar adecuadamente justificada para incluirlos en el estudio de bioequivalencia y los métodos de cálculo definidos a priori en el protocolo del estudio.

7.2 Estudios de dosis única

En los estudios de dosis única, los parámetros fundamentales para demostrar bioequivalencia son el área bajo la curva de concentración plasmática en función del tiempo (ABC) y la concentración plasmática máxima observada (C_{max}).

El valor del ABC deberá ser calculado a partir de los datos de concentración plasmática observados mediante el método trapezoidal lineal.

El valor del ABC solo podrá ser utilizado en el estudio si el ABC estimada desde tiempo cero hasta el tiempo en el cual se observó la última concentración plasmática medida (ABC_{0-t_z}) es igual o mayor al 80% del área bajo la curva extrapolada al infinito ($ABC_{0-\infty}$).

Los valores de C_{max} observados sólo serán útiles para estimar bioequivalencia si están claramente definidos y determinados con relativa exactitud. Esto se logra con tiempos de muestreo apropiados en la

región de máxima probabilidad de aparición del pico de concentración plasmática, determinada a partir de un estudio piloto o de datos disponibles en la literatura.

Otros parámetros complementarios pueden ser calculados e incluidos en el estudio, a fin de proporcionar información adicional acerca del comportamiento farmacocinético de los productos a testear como, el tiempo al cual se observa la máxima concentración plasmática (T_{max}), el área bajo el momento de la curva (ABMC), el tiempo medio de residencia (TMR) y la semivida aparente de eliminación ($t_{1/2el}$).

El T_{max} es una función de las constantes de velocidad de absorción como de eliminación. La utilidad de su valor está sujeta a las mismas consideraciones de C_{max} . Sin embargo la robustez del mismo es menor a ésta debido a que T_{max} es un parámetro que cuantifica una variable discreta (tiempos de muestreo) cuyos valores fueron preestablecidos en el diseño experimental, por lo tanto se lo incluye en el grupo de los parámetros complementarios.

El ABMC es un parámetro farmacocinético que no tiene interpretación directa, pero su cálculo es obligado para la estimación del TMR, por lo tanto sus valores pueden ser incluidos en el estudio.

El TMR puede ser utilizado como una variable complementaria cuando refleja el tiempo medio de absorción (TMA). El TMR sólo puede ser empleado cuando se ha determinado el TMR luego de la administración intravenosa en los mismos animales.

Si el diseño requiere otras matrices biológicas distintas del plasma, deberá seleccionarse y justificarse la utilización de los parámetros que se elijan.

7.3 Estudios de dosis múltiples

El parámetro farmacocinético fundamental para determinar bioequivalencia en los estudios de dosis múltiples es el área bajo la curva en estado de equilibrio entre administraciones ($ABC_{0-\tau}$).

Como parámetros complementarios se pueden considerar la concentración promedio en estado estable que se estima cómo $ABC_{0-\tau}$ sobre el intervalo entre administraciones (τ) ($ABC_{0-\tau}/\tau$), y el rango de fluctuación entre la concentración máxima y la concentración mínima observadas una vez alcanzado el estado de equilibrio estacionario ($C_{max} - C_{min}$).

7.4 Criterios para determinar la bioequivalencia (intervalo de bioequivalencia)

Los criterios deben ser seleccionados antes del comienzo del experimento y descriptos en el protocolo. El intervalo de bioequivalencia debe estar justificado con respecto a efectos clínicos esperados o efectos farmacológicos.

Para establecer que dos formulaciones son bioequivalentes se debe estimar el intervalo de confianza al 90% (IC90%) del cociente entre las medias geométricas (μ_T/μ_R) del ABC y la C_{max} , y demostrar que éste está comprendido dentro de un intervalo cuyos límites inferior y superior son 0.80 y 1.25.

En casos específicos en los cuales el principio activo del producto en investigación presente una ventana terapéutica estrecha, como en el caso de los compuestos con curvas de dosis-respuesta pronunciadas (con grandes variaciones en poco tiempo), entonces los límites deberían ser más estrechos.

En caso de tener que demostrar bioequivalencia entre productos en investigación que presentan principios activos con amplio margen terapéutico, puede considerarse la ampliación de los límites a 0,7 -1,43. Esto es muy frecuente en el caso de C_{max} siempre que se basen en evidencia clínica y cuando se especifique en el protocolo.

7.5 Análisis de los datos

El análisis de los datos debe presentarse en detalle. Es necesario realizar un análisis de varianza (que incluya formulación, período, secuencia, animales anidados en secuencia y, cuando correspondiera, efectos de sexo por formulación) para estimar la varianza de error que luego se utilizará para calcular el intervalo de confianza. Para ABC y C_{max} , antes de realizar el análisis de varianza, se recomienda la transformación logarítmica de datos. Para los parámetros dependientes del tiempo observados, la transformación no corresponde y podría ser mejor utilizar un enfoque no paramétrico. Para finalizar con el análisis de bioequivalencia, se deben comparar los límites superior e inferior del intervalo de confianza calculados con la varianza de error estimada, que se encuentran en las tablas de Análisis de la Varianza (ANOVA), con los límites predeterminados, es decir, 0,8 a 1,25 o 0,7 a 1,43 para datos de transformación logarítmica o bien 0,8 a 1,2 o 0,7 a 1,3 para datos no transformados.

Si se detectó un efecto en la secuencia, se debe analizar el primer período del diseño cruzado como diseño paralelo.

Cuando se utilizan varios criterios en la demostración de la bioequivalencia (caso general), la conclusión final a favor de la bioequivalencia se saca solamente si la hipótesis nula de no equivalencia es rechazada respecto de todos los parámetros relevantes.

También pueden emplearse otras técnicas de análisis estadístico validadas y adecuadamente fundamentadas.

8. BIBLIOGRAFÍA

- “Guidelines for the conduct of bioequivalence studies for veterinary medicinal products”, EMEA/CVMP/016/00-FINAL, The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products, Veterinary Medicines and Information Technology, 2001.
- “Guidance for Industry, Bioequivalence Guidance”, U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration (FDA), Center for Veterinary Medicine (CVM), 2002.
- “Note for guidance on the investigation of bioavailability and bioequivalence”, CPMP/EWP/QWP/1401/98, The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products, Evaluation of Medicines for Human Use, 2001.