

VETERİNER İLAÇLARININ BİYOEŞDEĞERLİĞİ BIOEQUIVALENCE OF THE VETERINARY MEDICINE

İsmet YILMAZ

İnönü Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmakoloji Anabilim Dalı, 44280 Malatya, TÜRKİYE.

ÖZET

Bu derlemede; biyoeşdeğerliğin kısa tanımı, biyoeşdeğerlik çalışmalarının gerektiği durumlar, çalışma tipleri, tasarımları ve değerlendirme ölçüt ve analizi ile veteriner ilaçlarında gerçekleştirilen çalışmalar özetlenmiştir. Ayrıca veteriner ilaç piyasası açısından önemli olduğuna inanılan en değerli kalite kontrol testinin ülkemizdeki bilim insanları tarafından rahatlıkla gerçekleştirilebilirliğinin göstergesi olarak yapılan çalışma sonuçları sunulmuş ve yasal düzenlemelerin gecikmeden yapılması gerekliliği bir kez daha vurgulanmak istenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Veteriner ilaçları, Biyoeşdeğerlik

ABSTRACT

In this review; short definition of bioequivalence, situations where bioequivalence studies require, the study types, experimental design and evaluation criteria and analysis of the results with studies conducted in veterinary medicine are summarized. Moreover, in the view of veterinary medicine marketing is important and it is believed that the most valuable quality control testing in our country's scientist realised and the results of study that have been used easily as an indicator, and these are presented and the legal arrangements should be made without delay once again were to be highlighted.

Key Words: Veterinary medicine, Bioequivalence

Tel:+90 0422 3410660(1836), fax: +90 422 3411217

E-mail adres:ismetyilmaz44@hotmail.com

GİRİŞ

Veteriner Hekimliğinde kullanılan ilaçlara ait biyoeşdeğerlik çalışmalarına Amerika Birleşik Devletlerinde ve Avrupa Birliği ülkelerinde yaklaşık yirmi yıl önce başlanmış, geçen zaman içerisinde yapılan çalışmaların verilerinden ilaçların biyoeşdeğerliğinin değerlendirilmesinde kullanılacak önemli parametreler ve izlenebilecek yol haritaları belirlenmiştir.

Biyoeşdeğerlik

Biyoeşdeğerlik testleri iki ürünün yeterli derecede benzer plazma yoğunluğu oluşturması gerekliliğini gösterir, yani herhangi bir etkin maddenin aynı alanda kullanılan müstahzarları arasında bilimsel verilere göre tercih yapabilmeyi sağlar. Biyoeşdeğerlik testlerinin amacı aynı etkin maddeyi ihtiva eden iki ürünün sistemik etkisinin etkinlik ve/veya güvenlik yönünden benzer olup olmadığını belirlemektir. Biyoeşdeğerlik çalışmaları aynı zamanda ilaçların etkinlik, güvenlik ve kalitesini belirlemeye yönelik olarak uygulanabilecek bir kalite kontrol testidir (1, 2).

Biyoeşdeğerliğin ön şartı ilaçlar arasındaki farmasötik eşdeğerliktir. İki farklı ürün aynı etkin madde/maddeleri aynı miktar(lar)da veya karşılaştırılabilir standartlara uygun farmasötik şekiller halinde içeriyorlarsa farmasötik eşdeğer olarak kabul edilir (3, 4, 5). Aynı etkin madde/maddelerin aynı molar miktarının iki ürün içinde de eşit olarak bulunmasına kimyasal eşdeğerlik denir (3, 4). Bir müstahzar etkinliği ve güvenliği daha önceden tespit edilmiş bir başka müstahzar ile aynı etkin maddeyi veya terapötik molekül kısmını içermekte, aynı etkinlik ve güvenliği klinik olarak göstermekteyse, bunlar arasında terapötik eşdeğerliğin varlığından kesin olarak söz edilebilir (3, 4). Ayrıca biyoeşdeğerlik, uygulama yollarını karşılaştırmak ya da benzer formülasyonun yığınları arasında terapötik yetersizliğin nedenlerinin tespitinde kullanılabilir önemli bir araçtır (6, 7).

Biyoeşdeğerliğin Belirlenmesinde Dikkat Edilecek Temel Kurallar

Biyoeşdeğerliği test etmek için kandaki etkin madde konsantrasyonunun zamana bağlı olarak çizilmesi ilk tavsiye edilen metottur. Biyoeşdeğerlik denemeleri birincisi klinik (uygulama) diğeri de gerekli analizlerin yapıldığı (biyoanalitik) olmak üzere iki dönem halinde yürütülür. Her ikisi aynı yerde yapılabileceği gibi farklı yerlerde de yapılabilir (4). Bir veteriner ürününün biyoeşdeğerliği sistemik dolaşıma katılarak etki yer(ler)inde yararlanılabilir olan etkin maddenin hız ve miktarıyla tarif edilir. Hız ve miktarı belirleyen en önemli parametreler EAA-AUC (eğrinin altındaki alan), C_{max} (doruk konsantrasyon) ve t_{max} (doruk konsantrasyon zamanı)'tur (2, 3, 4, 5, 6, 7, 8). EAA aynı zamanda emilen ve dolayısıyla sistemik dolaşıma giren yani yararlanılabilir olan miktarın bir göstergesi olup emilme hızından bağımsızdır. C_{max} ve t_{max} ise melez parametrelerdir ve ilacın hem emilme, hem de eliminasyon hızı ile çok sıkı bir ilişkisi vardır (2, 3, 4, 5, 6). Uygulama

sonrasında ilacın kanda ilk tespit edildiği zaman noktasından (EAA_0) ilacın son ölçülebildiği zaman noktası (EAA_{son}) arasındaki toplam alan (EAA_{0-son}) olarak tanımlanmaktadır. EAA 'ın hesaplanmasında lineer veya logaritmik trapezoidal metotlar kullanılır (4, 5, 6). C_{max} ve t_{max} genellikle her bir denek için çizilen plazma ilaç konsantrasyonu-zaman verilerinin direkt bakışı ile belirlenebilir. Eğer bir ürün için en uygun t_{max} biliniyorsa veya elde bir pilot çalışma varsa t_{max} 'a yakın noktalarda çoğaltılmış örnekleme sıklığıyla yapılan bir biyoeşdeğerlik çalışması, C_{max} ve t_{max} 'un önemini artırır (4, 5, 6). Plazma ilaç konsantrasyonu-zaman eğrisi çoklu doruk sergiliyorsa veya eğri düz ve uzun biçimde ise C_{max} ve t_{max} 'ı belirlemek zor olacağından, ilaç emilme hızıyla ilgili parametreleri belirlemek de zor olabilir (6).

İki ürünün kullanımı sonrası sistemik emilim oluşuyor ve kantite olarak bu etkiler belirleniyor fakat analitik olarak ortaya konamıyorsa, bu ürünler arasındaki biyoeşdeğerlik farmakodinamik veriler üzerinden değerlendirilebilir. Farmakodinamik etkiler üzerinden yapılacak biyoeşdeğerlik denemelerine ait prensiplerin otoriteler tarafından çok titiz olarak önceden protokolda belirlenmesi önemlidir (2, 4, 5, 6). İki formülasyonun farmakodinamik denemeleri üzerinden biyoeşdeğerlik değerlendirilmesi durumunda, diğer etkilerdeki farklılıkların çok titiz olarak tespiti gereklidir. Biyoeşdeğerlik çalışmasında ölçülen farmakodinamik etki direkt, hızlı ve geri dönüşümlü (antihipertansif ilaç için kan basıncı düşüşü, diüretik ilaç için idrar akış hızı gibi) olmalıdır (4, 6). İlaçların sistemik etkiden bağımsız yerel etki (mastitiste meme içi veya mide-bağırsak parazitleri için antiparaziter, ya da enteritiste enterik antibiyotiklerin kullanılması) amacıyla uygulanması durumlarında meme içi uygulamalar için süt, antiparaziter ve diğer uygulamalar için bağırsak içeriği uygun bir materyaldir ve bunlardaki analizler üzerinden biyoeşdeğerlik kararına varılmalıdır (4, 6). Eğer ana ilahtan ziyade birinci derecede etkin metabolitlerin ölçümüne elverişli bir metot mevcutsa ve/veya ürün ön ilaç formunda olup hızlı etkin bir metabolite dönüştürülüyorsa, metabolit verileri üzerinden karar vermek daha uygundur (4, 5, 6, 9). Hayvanlarda bakampisilin'in oral verilmesini müteakip ampisilin (3) veya suksibuzonun verilmesini takiben oksifenbutazon ve fenilbutazon (10) yoğunluğu üzerinden biyoeşdeğerlik çalışması yapılması bu konuya güzel bir örnek teşkil eder.

Kan veya plazma verileri üzerinden ölçüm yapılması için uygun herhangi bir analitik metodun olmadığı veya mevcut metodun duyarlılığının düşük olduğu durumlarda ise idrardaki ana ilaç veya metabolitinin ölçümü temel alınarak biyoeşdeğerlik değerlendirmesi yapılabilir. Burada örnek alma süresi önemlidir ve bu süre kullanılan ilacın eliminasyon yarılanma ömrünün en az beş katı olmalıdır. Fakat bu tür durumlarda analizde kullanılacak metodun hem ilaç hem de

metabolitinin tespitine imkan verecek nitelikte olmasına dikkat edilmeli ve atılmanın idrar dışında başka yollardan da gerçekleşebileceği unutulmamalıdır (4).

Biyoeşdeğerlik Çalışmalarına İhtiyaç Duyulan Durumlar

- ✓ Jenerik olarak tasarılmamış fakat bilinen bir maddeyi veya yeni bir maddeyi içeren ürünler; Bir ilacın dozaj şeklinin özelliklerinde, bileşiminde veya imalat işlemlerinde bir değişiklik yapıldığında yeni ürünün yürütülen klinik denemelerde verilen referans ürüne göre etkinlik ve/veya güvenlik bağlamında biyoeşdeğer olduğu gösterilmelidir. İmalat işlemlerinde firma tarafından gerçekleştirilen değişikliklerin uygunluğu eğer in-vitro çalışmalarla doğrulanabilirse yalnızca in-vitro biyoeşdeğerlik istenir (2, 8).
- ✓ Jenerik olarak tasarılmış bilinen yeni bir maddeyi içeren ürünler; Referans etkinlik ve/veya güvenlik anlamında onaylanmış bir ürün ise biyoeşdeğerliği de gösterilmelidir (2, 8).
- ✓ Uygulama yollarının karşılaştırılması; Uygulamanın her iki yoluna ait plazma konsantrasyon-zaman profilleri istatistiksel olarak benzer olduğunda uygulama yolları biyoeşdeğerdir. Bazı durumlarda diğer biyolojik sıvılardaki konsantrasyon profilleri plazma konsantrasyon profillerinden daha uygun olabilir (2, 8).

Biyoeşdeğerlik Çalışmasının Gerekmediği Durumlar

Aşağıdaki şartların bir veya birçoğunu yerine getiren ürünlerde biyoeşdeğerlik çalışmaları genellikle gerekmez

a-Sadece damar içi uygulamalar için tasarlanmış ve hedef türlerde kullanılmak üzere onaylanmış bir damar içi solüsyonla aynı etkin madde veya terapötik bileşiği içeriyorsa,

b-Parenteral veya oral olarak uygulanan bir solüsyon şeklinde kullanılıyor ve hedef türlerde kullanılmak üzere yakın zamanda onaylanmış bir veteriner ürünüyle aynı etkin madde/maddeleri ve taşıyıcıları aynı konsantrasyonda içeriyorsa,

c-Biyoyararlanımı hedef türlerde gösterilmiş referans ürünle aynı formülasyona (aynı etkin madde ve aynı fizikokimyasal özelliklere) sahipse,

d-Emilmesi istenmeyen bir oral dozaj şekli olarak tasarlanmış (antiasit veya radioopak madde) ise,

e-Şurup veya benzer şekilde diğer çözünür hale getirilmiş formlarda ise, etkin madde veya terapötik bileşiği hedef türlerde kullanılmak üzere onaylanmış bir ürünle aynı terapötik kısım ve etkin maddeyi aynı konsantrasyonda içeriyorsa ve etkin madde veya terapötik bileşiğin emilmesini belirgin derecede etkileyebilecek herhangi bir inaktif madde içermiyorsa,

f-Orijinal üreticiler tarafından yeniden formüle edildiğinde renklendirici veya tatlandırıcı ajanlar ya da koruyucular gibi biyoyararlanımda etkili olmadığı bilinenler hariç tutulduğunda orijinal ürünle özdeşse,

g-Solunum yoluyla kullanılan uçucu anesteziik solüsyonlardan ise,

h-Gıda üretiminde kullanılmayan hayvanlarda yerel etki için tasarlanan ilaçlardan ise (2, 8).

Biyoeşdeğerlik Çalışma Tipleri

Biyoeşdeğerlik çalışmaları in-vivo veya uygun özelleştirilmiş şartlarda in-vitro olarak yapılır (2, 8). Ayrıca yeni ilaç araştırmaları ya da araştırılması tamamlanmış (innovatör) ürünün ruhsatlandırılması süreçlerinde, yani klinik denemelerin erken ve son dönemlerinde kullanılan formülasyonlar arasında, klinik denemelerde kullanılan formülasyonlar ile pazarlanacak formülasyonlar arasında ve stabilite çalışmaları ile klinik denemelerde kullanılan formülasyonlar arasında karşılaştırma yapmak, aralarında bağlantı kurmak için biyoeşdeğerlik çalışmaları gereklidir (4, 9).

İn-vitro çalışma

Bu çalışma türü aşağıdaki durumlarda in-vivo biyoeşdeğerliğin belirlenmesine katkıda bulunabilir: *İn-vivo biyoeşdeğerliği en yüksek dozaj için gösterilen ürünün en küçük dozaj formülasyonunun biyoeşdeğerliğini desteklemede,

*Referans ürünün ve onun oral yolla uygulanabilen jenerik ürününün karşılaştırılabilirliğini belirlemede, *Onaylanmış bir üründe küçük bir formülasyon değişikliği yapıldığında ve bir ürünün serileri (batch) arasındaki tutarlılıktan emin olmak istendiğinde, in-vitro biyoeşdeğerlik çalışmaları yeterlidir (2, 3, 4).

İn-vivo çalışma

Bu tür biyoeşdeğerlik testi en doğru, hassas ve tekrarlanabilir yöntemlerin kullanılmasıyla farmakokinetik ve/veya farmakodinamik çalışma olarak planlanmalı ve yürütülmelidir (2, 3, 4).

a-Farmakokinetik çalışma: İn-vivo testlerde hedef türde etkin madde veya terapötik bileşenin ya da onun metabolit(ler)inin uygun biyolojik sıvı ya da dokudaki konsantrasyonlarının zamanın bir fonksiyonu olarak hesaplanan farmakokinetik verileri üzerinden değerlendirme yapılır (2, 3, 4).

b-Farmakodinamik çalışma: Bu yaklaşım uygun fizyolojik materyallerde ilaç konsantrasyonunu belirleyebilecek duyarlı bir analitik metot olmadığında kullanılabilir. Bu testte hedef türlerde zamanın bir fonksiyonu olarak etkin madde veya terapötik bileşiğin ya da metabolit(ler)inin akut farmakolojik etkilerinin uygun şekilde ölçülmesi gereklidir. Bu yaklaşımda

doz-cevap ilişkisinin ortaya konması zorunludur ve yerel etkili ürünlerde biyoeşdeğerliğin gösterilmesi için bu en uygun metottur (2, 3, 4).

Tek Dozlu İn-vivo Biyoeşdeğerlik Çalışmalarının Tasarımı

Referans ürün

En uygun referans ürün dünyada ilk ruhsatlandırılan ürün veya orijinal moleküldür. Referans ürün, aynı etkin madde bileşimini yeni bir formülasyon, yeni bir dozaj şekli veya yeni bir tuzu şeklinde içeren onaylanmış bir ürünün güncel serileri (batch) arasından alınmalı, aynı terapötik bileşimin değişik esterleri farklı ürünler olarak gözönünde bulundurulmalıdır (2, 8). Farklı talep, özellik veya etiketlerde hazırlanmış birkaç onaylanmış ürün mevcut olduğunda biyoeşdeğerlik testi jenerik ürün gibi tasarlanmış ama aynı kullanıma yönelik onaylanmış bir ürünle yürütülmelidir. Aynı etkin maddeyi farklı konsantrasyonlarda içeren birçok onaylanmış ürün mevcut olduğunda kimyasal eşdeğeri olan ürünün seçilmesi en akılcı yoldur. Orijinal ürünün onaylanmış birden çok formülasyonu mevcut olduğunda (farklı türler/farklı amaçlar için) biyoeşdeğerlik çalışmaları her tür ve amaç için ayrı ayrı yürütülmelidir (8).

Referans yol

Biyoeşdeğerlik değerlendirilmesinde referans uygulama yolu olarak klinik ve toksikolojik denemelerde kullanılan yol tercih edilmelidir (2, 3, 4).

Test ve referans ürün için standartlar

Test ve referans olacak ürünlerin özdeşlik, dayanıklılık, nitelik ve saflık yönünden diğer kabul edilebilir standartları bütün yönleriyle karşıladığı gösterilmelidir. Test ürün içindeki ilaç miktarı referans üründeki miktardan $\pm\%5$ den fazla fark göstermemelidir (4). Kaliteli bir ürün, biyoeşdeğerliğini ve dolayısıyla biyoyararlanım ölçümlerindeki performansını bütün raf ömrü boyunca korumalıdır (1, 2, 3, 4).

Hayvanlar

Ürün veya uygulama yollarının karşılaştırılmasının yapılacağı in-vivo tek doz biyoeşdeğerlik çalışmaları mümkünse ilacın kullanılmasının düşünüldüğü hedef türlerde ayrı ayrı yürütülmelidir (6, 8). Biyoeşdeğerlik çalışmalarında kullanılacak hayvanlar yaş, cinsiyet, ağırlık, ırk, hormon ve beslenme durumu ile verim yönünden bir örnek olmalıdır. Ayrıca cinsiyet ile ürünler arasında etkileşime dair herhangi bir bilgi yoksa çalışmanın bir cinsiyetle sınırlandırılmaması önerilir (2, 8). Bir çalışma içerisinde hayvanların homojenliğini sağlamak zor olduğunda (atlarda olduğu gibi) yaş, ağırlık, cinsiyet gerekirse her tedavi grubu içindeki hayvanların dikkatlice ayrımıyla elde edilen homojen olmayan grubun kullanılması kabul edilebilir. Burada sınırlandırmayla ilgili engelleyici faktör(ler)e göre grup seçimi rasgele yapılmalıdır (2, 6, 7). Bir biyoeşdeğerlik çalışmasında, fazla

denek içi değişkenliğe sahip ürün(ler) az sayıda hayvanla ($n=6$ gibi) çalışıldığında gerçekte formülasyonlar arasında var olan farklılık kullanılan istatistiksel metodun yetersizliğinden dolayı belirlenemeyebilir. Aksi durumda ise denek içi değişkenliği az formülasyonlar çok sayıda hayvanla ($n=24$) çalışılırsa tedaviler arasındaki farklılıktan emin olunabilir ama bu küçük ve tedavide anlamı olmayan bir belirleme olacaktır (6). Biyoeşdeğerlik çalışmasında hayvan sayısı belirlenirken tüketici riski (alfa ya da tip bir hata), üretici riski (beta ya da tip iki hata), biyoeşdeğerlik aralığı (delta) ve son olarak da test edilen biyoeşdeğerlik parametrelerindeki denek içi değişkenlik veya hatalar (sigma hatası) yeterli hayvan sayısının belirlenmesinde temel öğelerdir (6).

Deneme şartları

Biyoeşdeğerlik çalışmaları “İyi Laboratuvar Uygulamaları” (GLP) çerçevesinde yürütülmelidir. Bir biyoeşdeğerlik çalışmasının verimli bir şekilde yürütülmesi için açlık veya tokluk şartları da protokolda belirtilmeli, referans ürünün etiketi açlık veya tokluk durumlarında uygulanmaya bir sınırlama getiriyorsa, bu durum dikkate alınmalıdır (2, 3, 4).

Test edilecek doz

Genellikle doğrusal (lineer) farmakokinetik gösterilmemiş ise onaylanmış doz dikkate alınmalıdır. Referans ürün olarak birkaç onaylanmış doz mevcut olduğunda, biyoeşdeğerlik testi en yüksek doz ile yürütülmelidir. Bununla da doruk plazma konsantrasyonu elde edilemiyor ise doz aşımı (over doz) ile çalışma sürdürülmelidir. Farklı farmakolojik etkileri de olabilecek şekilde tasarlanmış (ürünün terapötik talebine karşı) bir ürün için eğer doğrusallık gösterilmemişse farklı dozlarda çoklu biyoeşdeğerlik çalışmaları gereklidir (6, 8). İki formülasyonu karşılaştırmada, eğer aynı etkin maddeye sahip bir ürünün yeni formülasyonu sistemik yararlanımda belirgin bir ilerleme gösteriyorsa bu durum doz seçiminde önemli bir problem olarak öne çıkar ve biyoeşdeğerlik çalışmalarında bu tür durumların olması da muhtemeldir (6). Özellikle büyük hayvanlarda biyoeşdeğerlik çalışmalarında, doz ayarlamasında hayvanların canlı ağırlıklarının takibi EAA, C_{max} ve t_{max} 'ta olası farklılıkları gidermek bakımından önemlidir (6, 11).

Örnekleme

Etkin madde ve/veya metabolit(ler)inin kan, serum veya plazma ya da idrardaki konsantrasyonları duyarlı bir analiz yöntemiyle ölçülür (8, 12). Örnekleme zamanları eliminasyon ve emilme derecesi ile plato veya doruk konsantrasyon ve zamanının doğru olarak belirlenmesine mümkün olduğunca izin vermelidir. Konsantrasyon-zaman eğrisinin eliminasyon döneminin doğru bir şekilde çizilebilmesi için, t_{max} 'tan sonra en az üç tercihen beş eliminasyon yarı ömrü kadar bir sürede uygun aralıklarla örnekleme yapılmalıdır (6, 7, 12). Etkili bir örnekleme zamanının belirlenmesinde konsantrasyon-zaman eğrisinin biçimi ve benzeri değişikliklerin ayrımı için bir pilot çalışmanın incelenmesi gerekebilmektedir (8, 12).

DeneySEL tasarım

Farmakokinetik çalışmalarda denek içi değişkenlik, denekler arası değişkenlikten genellikle daha küçük olduğundan biyoeşdeğerliğin belirlenmesinde hayvanlar arası farmakokinetik farklılıkların etkisini azaltmak için tek doz çapraz tasarım seçilmelidir (6, 12). Denemenin birinci periyodu ile ikinci periyodu arasında bekleme süresi olarak etkin madde/maddeler veya metabolit(ler)in yarılanma ömrünün on katı bir zaman dikkate alınmalıdır. Ancak özellikle gelişmekte olan hayvanlarda eliminasyon süresi uzun ürün(ler)le yapılacak biyoeşdeğerlik çalışmalarında mikrozomal enzimlerin uyarılması ihtimaline karşı ilave bir zamana ihtiyaç duyulabilir (8, 12). Biyoeşdeğerlik çalışmalarında kullanılacak ürünlerin etkin maddesi avermektinler gibi yağ dokusuna afinitesi yüksek bileşikler içeriyorsa, iki çalışma arasındaki temizlenme süresi etkin madde/maddelerin eliminasyon yarılanma ömrünün en az on katı olmalıdır (6). Test ve referans ürünle önceden yapılan çalışma sonuçları ile arzu edilen istatistiksel anlamlılık düzeyi ve gücü grup büyüklüğünün belirlenmesinde önemli faktörlerdir. Bu yönlerden çapraz çalışma tasarımı avantajlıdır (8). İki dönemli çapraz tasarım dağılım hacmi (Vd), klerens (Cl), ilacın emilme hızındaki denekler arası farklılıklar gibi çalışmada değişkenliğe neden olabilecek bir dizi faktörü elimine eder. İki dönemli çapraz tasarımda deneklerin eşit sayıda olması kaydıyla rast gele A ve B döngüsü seçilerek deneme yürütülür. Eğer bir ardışıklık etkisi belirlenmiş ise çapraz tasarımın birinci periyodu paralel bir tasarım gibi analiz edilmelidir (2, 4, 12).

İlacın hayvanda bazı fizyolojik ve biyokimyasal fonksiyonları (ko-enzimleri) değiştirmesi ile ilacın klerensi ve biyoyararlanımında ikinci dönem için değişikliğin muhtemel olduğu durumlarda, eliminasyon yarı ömrü çok uzun ilaçların biyoeşdeğerliğinin değerlendirmesinde, iki dönemli çapraz çalışma düzeninde bekleme süresinin çok uzun olması nedeniyle deneklerde belirgin yapı değişikliğinin ortaya çıkabileceği durumlarda ve ilaç geciktirilmiş veya uzatılmış emilim (flip-flop kinetiği) gösterdiği durumlarda çapraz yerine paralel tasarım tercih edilmelidir (8).

Biyoeşdeğerlik Denemelerinin İstatistiksel Analizi

Analiz olacak karakteristikler

Kan serumu ya da plazma örneklerinin konsantrasyon-zaman eğrilerinden çıkarılan farmakokinetik parametreler analiz edilmelidir. Olası önyargılardan sakınmak için asıl parametre karşılaştırmaları, uyarlanmış verilerin yerine gözlemle elde edilen veriler üzerinden yapılmalıdır (2, 3, 4, 12).

Tek dozlu çalışmalar

Ölçüt olarak dikkate alınacak parametreler önceden belirlenmeli ve klinik ve/veya toksikolojik etkilere uygun olmalıdır (8). Biyoeşdeğerlik belirlenmesinde asıl parametreler ilacın biyoyararlanım derecesini gösteren konsantrasyon-zaman eğrisi altındaki alan (EAA) ile kısmen

biyoyararlanımın derece ve hızı ile ilaca maruz kalma şiddetine işaret eden doruk konsantrasyon (C_{max})'dur. Diğer bazı çalışmalarda dikkate alınabilen (13, 14) ve kullanılan doruk konsantrasyona ulaşma süresi (t_{max}), ortalama kalış zamanı (OKZ-MRT), Moment Eğrisi Altındaki Alan (MEAA-AUMC) gibi parametreler de vardır (2, 8, 12).

$EAA_{(0-\infty)}$ lineer trapezoidal yöntemle hesaplanmalıdır. Eğer eliminasyon fazındaki örnekleme aralıkları yeterli ise logaritmik trapezoidal yöntem veya diğer metotlar da kullanılabilir (6, 8, 15). EAA'ın hesaplanma metodu önceden belirlenmeli ve ekstrapolasyondan tercihen sakınılmalıdır. Ekstrapolere edilen EAA kısmının, toplam EAA'ın %20'sinden daha fazla olduğu bütün durumlarda $EAA_{(0-\infty)}$ 'un kullanılması mümkün değildir. Benzer teknikler Moment Eğrisi Altındaki Alan (MEAA) ve Ortalama Kalış Zamanı (OKZ) için de geçerlidir (2, 15). C_{max} ve t_{max} parametreleri eğer doruk konsantrasyon açıkça belirlenmiş ve doruk bölgesindeki uygun örnekleme zamanları doğru bir biçimde tespit edilmişse anlamlıdır (2, 15). OKZ ise sadece aynı hayvanlarda damar içi (i.v.) uygulama sonrasında OKZ belirlenmiş olduğu zaman kullanılabilir (1). Plazma ilaç konsantrasyonu-zaman eğrisinden elde edilen OKZ, emilme hızlarındaki farklılıkları belirlemede t_{max} 'a bir alternatif veya onunla karşılaştırılabilir bir değer olarak önerilmektedir. Eliminasyon yarılanma süresi beş saatten az ve emilim hızı eliminasyon hızından yüksek formülasyonlarda, test ve referans formülasyonların OKZ değerleri arasındaki fark, emilme hızlarındaki farklılıkların belirlenmesinde en güçlü parametre olarak ortaya çıkar. Bununla birlikte eğer eliminasyon yarılanma süresi beş saati aşıyorsa, OKZ'daki farklılıklar için %90 güven aralığı biyoeşdeğerlik testinde genellikle çok geniştir (6, 8).

Biyoeşdeğerlik belirlene ölçütü (Biyoeşdeğerlik aralığı)

Biyoeşdeğerlik kararını verirken sadece sayısal değerlerin istatistiksel önemi değil, denek içi ve denekler arası değişkenlerin tıbbi önemi de dikkate alınmalıdır. Bazı ürünler için biyoyararlanımdaki daha büyük değişkenlik, terapötik kullanım amacı veya ürünün geniş terapötik indeksi nedeniyle çok titiz dozaj rejimi gerektirmemesi hallerinde gözardı edilebilir (8, 15).

Yüksek derecede değişken (ANOVA testi ile belirlenen özne içi varyasyon katsayısı %30'dan fazla olan) ilaçlar ile ilaç olarak kullanılan endojen etkin maddeler ve eliminasyon yarılanma ömrü çok uzun ya da kiral maddeler içeren ürünlerin biyoeşdeğerliğinin değerlendirilmesinde kabul aralığı veya diğer ölçütler açısından var olan sorunların çözümü için bu sınırların biraz daha genişletilmesi bazı otoritelere tavsiye edilmektedir. Bu tür ilaçların biyoeşdeğerliği çalışmalarında fazla sayıda denek kullanılması gerekmektedir. Bir diğer husus, bu

tür ilaçlar eğer terapötik indeksi dar ise biyoeşdeğerlik çalışmalarında kabul aralığı yani 'kale'nin genişletilmesinin yanında kararlı durum çalışması da önemlidir (4).

Biyoeşdeğerlik kararında %90 güven aralığı daima kullanılmaktadır. Genel kural olarak EAA için, iki ürün ve/veya uygulamanın ortalaması karşılaştırıldığında farkın %80–125 sınırları içinde olması gerekir. Ancak güvenlik aralığı geniş, yani geniş terapötik indekse sahip bileşikler için bu sınırların daha da genişletilmesi tavsiye edilmektedir (2, 3, 4, 6). Eğer ilacın etkisi kademeli doz-cevap özelliğinde ise %20'lik bir fark kabul edilmeyebilir (2, 3, 4). C_{max} için de bu sınır %80–125'dir. Fakat bu parametre özellikle örneklere bağımlı olarak çok büyük bir değişkenlik sergiliyorsa %70–143'lük sınırlar kabul edilebilir (2, 8, 12). Bu önemli iki parametrenin (EAA ve C_{max}) %90 güven sınırlarının (0.8–1.25) karşılaştırılmasıyla farmasötik olarak eşdeğer olmayan ama aynı etkin maddeyi içeren ürünler için biyoeşdeğer olarak karar verilebilir (2, 6). Zamana bağlı t_{max} gibi parametreler için (eğer gerekiyorsa) değişkenliğin izafi bir aralığı seçilmelidir, burada 10 dakikalık t_{max} 'ın %20 değişkenliği 120 dakikalık t_{max} 'ın %20 değişkenliği ile aynı anlamda olamaz. Bu parametre için biyoeşdeğerlik aralığı dikkatlice tarif edilmeli ve doğrulanmalıdır (2, 3, 4).

Veri analizi

Veri analizi ayrıntılı olarak yapılmalıdır. Bir varyans analizi, (formülasyon, dönem, sıklık, sıklık içindeki hayvanlar ve uygun olduğunda cinsiyet ve cinsiyet-formülasyon etkileşimleri dahil) güven aralığının hesaplanmasında kullanılacak değişkenlik hatasının belirlenmesinde gereklidir (6, 8). EAA ve C_{max} için varyans analizi yapmadan önce verilerin logaritmaya dönüştürülmesi tavsiye edilir. Buradaki temel amaç; a) değişkenleri kararlı duruma getirmek, b) parametre dağılımını normalleştirmek, c) kullanılan istatistiksel modelin katkısından emin olmak ve d) biyoeşdeğerlik aralığını bir oran veya yüzde (%) olarak gösterebilmektir (6).

Zamana bağlı (t_{max} gibi) parametrelerin değerlendirilmesinde (15), bu dönüşüm uygun olmadığından non-parametrik bir yaklaşımla istatistiğe sokulması düşünülmelidir (4, 5). Biyoeşdeğerlik kararını verebilmek için ANOVA tablosunda bulunan belirlenmiş hata değişkenliği ile hesaplanan güven aralıkları, alt ve üst sınırları önceden belirlenmiş sınırlarla karşılaştırılmalıdır. Logaritmaya dönüşümü yapılmış veriler için %80–%125 veya %70–%143, dönüşümü yapılmamış veriler içinse %80–%120 veya %70–%130 sınırları dikkate alınır. Aynı şekilde terapötik indeksi dar olan ilaçlarda, EAA üzerinden biyoeşdeğer kararını verirken sınırların daraltılması (logaritmaya dönüşümü yapılmamış veriler için 0.9–1.10 ve dönüşümü yapılmış veriler için 0.9–1.11) gereklidir (4, 6). EAA parametresine göre yapılan biyoeşdeğerlik incelemelerinde, diğer bütün parametrelere göre ürünler biyoeşdeğer olmasa dahi, olumsuz tüm hipotezler reddedilerek biyoeşdeğerlik lehinde

karar verilebilir (2, 6, 8). Biyoeşdeğerlik çalışması sonrasındaki kararın doğru veya yanlış olması üretici, tüketici (insan ve/veya hayvan sağlığı) ve ülke ekonomisi açısından oldukça önemlidir (2, 4, 5)(Tablo 1).

Tablo 1. Biyoeşdeğerlik kararının kimleri nasıl etkilediğini gösterir tablo

GERÇEK		
KARAR	BE	BE değil
BE	Doğru karar (üretici ve tüketicinin lehine)	Yanlış karar (tüketicinin aleyhine)
BE değil	Yanlış karar (üreticinin aleyhine)	Doğru karar (tüketicinin lehine)

Veteriner ilaçlarında biyoeşdeğerlik çalışmalarına ilişkin olarak tarafımızdan yapılan incelemelerde farklı parametreler, deneysel tasarım (paralel, çapraz), uygulama yolu ağızdan (oral), deri altı (d.a.) kas içi (i.m.), eliminasyon süresi (8, 15 gün), istatistiki metot ve hayvan sayısı çalışma şekillerinin (farmakokinetik, farmakodinamik) kullanıldığı görülmektedir (Tablo 2–5). Aşağıda biri yurtiçinden, ikisi de yurtdışından olmak üzere üç çalışmaya ait tablo ve şekiller verilmektedir.

Tablo 2. Enrofloksasin içeren iki ürünün piliçlerde oral yolla 10 mg/kg dozunda uygulanması sonrasında log dönüşümü yapılmış ortalama farmakokinetik parametreler (n=6)(21).

Farmakokinetik Parametreler	Enroflokscyna %10	Baytril %10	μ_B/μ_A
EAA ($\mu\text{g.h/ml}$)	1.257	1.271	0.988
C_{max} ($\mu\text{g/ml}$)	0.96	0.99	0.984

C_{max} : En yüksek ilaç konsantrasyonu, EAA: Konsantrasyon-zaman eğrisi altındaki alan,

Tablo 3. İvermektin içeren iki ürünün domuz ve sığırdaki deri altı (d.a) yolla 10 mg/kg dozunda uygulanması sonrasında log dönüşümü yapılmış ortalama farmakokinetik parametreler (n=6)(19).

Farmakokinetik Parametreler	IVM-TEST	IVM-KONTROL	μ_B/μ_A	Hayvan türü
C_{max} (ng/ml)	1.50	1.58	0.95	Domuz
$EAA_{0-20 \text{ gün}}$ (ng.h/ml)	2.18	2.10	1.04	Domuz
$EAA_{\text{total gün}}$ (ng.h/ml)	2.19	2.11	1.04	Domuz
C_{max} (ng/ml)	1.60	1.66	0.96	:Sığır
$EAA_{0-20 \text{ gün}}$ (ng.h/ml)	2.37	2.41	0.98	Sığır
$EAA_{\text{total gün}}$ (ng.h/ml)	2.38	2.41	0.99	Sığır

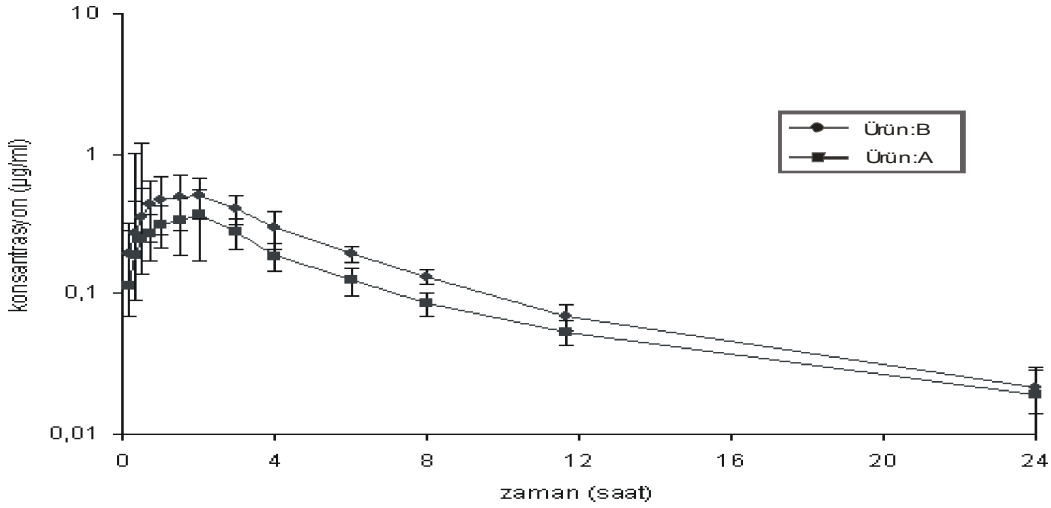
C_{max} : En yüksek ilaç konsantrasyonu, EAA_{0-20} : Konsantrasyon-zaman eğrisi altındaki alan (0–20 gün),

EAA_{total} : Konsantrasyon-zaman eğrisi altındaki alan.

Tablo 4. Enrofloksasin içeren iki ürünün düvelere kas içi yolla tek doz 2.5 mg/kg uygulanması sonrasında log dönüşümü yapılmış ortalama farmakokinetik parametreler (n=6) (17).

Farmakokinetik Parametreler	Ürün (B) Ortalama ±SEM(min-max)	Ürün (A) Ortalama ±SEM(min-max)	μ_B/μ_A
C_{max} (ng/ml)	2.739±0.056	2.636±0.085	1.04
t_{max} (h)	1.75	1.50	1.17
EAA_{0-24} (µg.h/ml)	0.525±0.029	0.391±0.033	1.34
EAA_{total} (µg.h/ml)	0.549±0.025	0.425±0.029	1.29
$t_{1/2\beta}$ (h)	0.779±0.069	0.865±0.080	0.90
OKZ (h)	0.793±0.042	0.798±0.022	0.99

C_{max} : En yüksek ilaç konsantrasyonu, t_{max} : C_{max} 'a erişilen zaman noktası, EAA: Konsantrasyon-zaman eğrisi altındaki alan, $t_{1/2\beta}$: Eliminasyon yarılanma ömrü, OKZ: Ortalama kalış zamanı.



Şekil 1. Enrofloksasin içeren ürünlerin düvelere kas içi yolla tek doz 2.5 mg/kg uygulanması sonrasında elde edilen yarı logaritmik ortalama (±SEM) konsantrasyon-zaman eğrileri (n=6) (17).

Yukarıda ise bu çalışmalardan bazılarında ait özetler sunulmaktadır; 6 adet düvede çapraz tasarım, 2.5 mg/kg tek doz kas içi enrofloksasin uygulaması (Tablo 4, Şekil 1)(17), 10mg/kg dozunda enrofloksasinin 10'ar adetlik iki grup piliçte paralel tasarımla oral yolla uygulama (Tablo 2)(21), ivermektin içeren iki ürünün (IVM test ve IVM kont.) 16 adet Holstein ırkı danada 200 µg/kg ve 16 adet domuzda 300 µg/kg deri altı uygulama, tek doz, paralel tasarım şeklinde yürütülen biyoşeydeğerlik çalışmalarına aittir (Tablo 3) (19).

Sonuç olarak; tablo 4 ve şekil 1, tablo 2 ve 3'deki veriler, ele alınan ürünlerin uygun endikasyonda, belirtilen hayvan türünde ve belirtilen uygulama yoluyla birbirlerinin yerine

kullanılabilir, yani biyoeşdeğer olduklarını belgelemektedir. Aşağıda (Tablo 5) yurtiçi ve yurtdışında yapılmış biyoeşdeğerlik çalışmalarına ait özet bilgiler ile biyoeşdeğerlik kararında önemli olarak kabul edilen ve kullanılan farmakokinetik parametreler verilmektedir.

SONUÇ

1-Tarım ve Köyişleri Bakanlığı tarafından hazırlanmış bir yönetmelik mevcut değildir. Bu durum veteriner ilaç firmaları ve tüketiciler açısından büyük bir kayıp olarak görülmektedir. Gelişmiş ülkelerde olduğu gibi gerek ilaç firmalarına rehberlik edecek, gerekse de bakanlığın bu konudaki çalışmalarını yönlendirecek kapsamlı bir yönetmelik hazırlanması bilimsel ve akılcı bir yaklaşım olacaktır.

2-Ülkemizde “Veteriner İlaçlarının Biyoeşdeğerliği” hakkında yönetmelik hazırlanması için üniversitelerin farmakoloji anabilim dallarında yeterli birikime sahip akademik personelin mevcut oldukları konu ile ilgili makalelerinden anlaşılmaktadır.

3-Ülkemizde veteriner ilaçlarında biyoeşdeğerlik çalışmalarının yürütülmesi için yönetmeliklerin hazırlanması, özellikle antibiyotik ve antiparaziterler için referans ürünlerin belirlenmesi, yerli ilaç endüstrisi, sürdürülebilir insan ve hayvan sağlığı ile Avrupa Birliği standartlarının uygulanması açısından önemlidir.

4-Amerika Birleşik Devletleri ve Avrupa Birliği ülkelerinde gerekli kanuni düzenlemelerin yapılmasını takiben veteriner hekimlikte kullanılan bazı ilaçlar için biyoeşdeğerlik çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Ülkemizde de veteriner farmakoloji alanında araştırmacılar tarafından çeşitli biyoeşdeğerlik çalışması ve doktora tezleri yapılmış (Tablo 5), ancak yasal düzenleme eksikliği nedeniyle sonuçlar yayınlanamamıştır.

5-Biyoeşdeğerlik çalışmalarında kullanılacak hayvan sayılarının (en az, en fazla) yönetmeliklerle sabitleştirilmesi araştırmacıların deneysel tasarımlarının düzenlenmesinde, sonuçların hesaplanmasında ve kararların kesinliğinde yararlı olacaktır.

6-Veteriner ilaçlarının biyoeşdeğerlik çalışmalarında kullanılacak esas (EAA , C_{max} , t_{max}) (Tablo 5) ve tali parametrelerin (OKZ , $t_{1/2\beta}$) (Tablo 5) yönetmeliklerle kesin olarak belirlenmesi çalışmalara daha fazla anlam kazandıracaktır.

7-Veteriner ilaçlarının biyoeşdeğerliği çalışmalarında kullanılacak biyoeşdeğerlik aralıkları güvenlik aralığı geniş ve dar olan ilaçlara göre kesin olarak belirlenmelidir.

Tablo 5. Ülkemizde ve dünyada değişik hayvan türlerinde farklı ürün/uygulama yolu kullanılarak yapılan biyodeşerlik (BE) çalışma sonuçlarından örnekler.

Ürün/etken madde	Çalışmanın amacı	Hayv. türü	Uyg. yolu	Araştırmacı ve yıl	BE çalışma tipi	Parametreler	Aralık	KARAR
Enrofloksasin	A(Referans) ve B(Test)	Siğir	i.m.	Yılmaz İ. 2007 (PhD tezi) (17)	Farmakokinetik	AUC_{0-10p} , AUC_{0-24} , C_{max} , t_{max}	0.7-1.43	BE
Sülfametoksazol-Trimetoprim	A(Referans) ve B(Test)	Piliç	oral	Altıntaş L. 2009 (PhD tezi) (16)	Farmakokinetik	AUC , C_{max} , t_{max}	0.8-1.25	BE
Sulfakuinoksalin	A(Referans) ve B(Test)	Piliç	oral	Alp H. 2008 (PhD tezi)(18)	Farmakokinetik	AUC , C_{max} , t_{max}	0.8-1.25	BE
İvermektin	İVM Test ve İV Kont.	Domuz	d.a.	Lifschitz ve ark 1999 (19)	Farmakokinetik	C_{max} , $AUC_{0-20gün}$, AUC_{top}	0.8-1.25	BE
İvermektin	İVM Test ve İV Kont.	Siğir	d.a.	Lifschitz ve ark 1999 (19)	Farmakokinetik	C_{max} , $AUC_{0-20gün}$, AUC_{top}	0.8-1.25	BE
Seftiofur sodyum	Uygulama yolu	Siğir	d.a.-i.m.	Brown ve ark 2000 (7)	Farmakokinetik	AUC_{0-1ast} , AUC_{0-20} , C_{max} , t_{max} , $t_{0.2}$	0.8-1.25	BE
Enrofloksasin	Baytril %10 ile 9 ürün	Piliç	oral	Sumano ve ark 2001a (20)	Farmakokinetik	C_{max} ve AUC	0.8-1.25	BE değil
Enrofloksasin	Baytril %10 ile 9 ürün	Siğir	i.m.	Sumano ve ark 2001b (14)	Farmakokinetik	AUC , C_{max} , $t_{1/2\beta}$	0.8-1.25	BE değil
Enrofloksasin	Enrofloksacyna ve Baytril %10	Piliç	oral	Posyniak ve ark 2001 (21)	Farmakokinetik	C_{max} , t_{max} ve AUC	0.8-1.25	BE
Suksibuzon	Pasta ve granül	At	oral	Jaraiz ve ark 1999 (10)	Farmakokinetik	AUC_{0-1ast} , C_{max} , MRT	0.8-1.25	BE
Karprofen	Uygulama yolu	Köpek	oral-	Clark ve ark 2003 (22)	Farmakokinetik	C_{max} , AUC	0.8-1.25	BE
Deltametrin	İki ürünün farmakodinamiği	Koyun	d.a.	Cadiergues ve ark 2004 (23)	Farmakodinamik	7. ve 14. günlerde sayım	gözlem	BE
Dihidrostreptom.	Penisilin-dihidrostreptomisin kombinasyonu	Tavşan	i.m.	Groen ve ark 1996 (24)	Farmakokinetik	EAA, C_{max} , t_{max} , $t_{1/2\beta}$, OKZ, OEZ	0.8-1.25	BE
Penisilin	Penisilin-dihidrostreptomisin kombinasyonu	Tavşan	i.m.	Groen ve ark 1996 (24)	Farmakokinetik	EAA, C_{max} , t_{max} , $t_{1/2\beta}$, OKZ,	0.8-1.25	EAA'a göre BE, C_{max} , t_{max} , a göre BE değil

KAYNAKLAR

1. **Traş, B., Elmas, M.**, Klinik farmakokinetik Selçuk Üniversitesi Basımevi, Konya, 137–140, (2005)
2. **Traş, B., Yazar, E.**, “İlaçlarda kalite, etkinlik ve güvenlik testi olarak Biyoeşdeğerlik” *Türk Vet Hek Bir Der*, **2**, 3–4, (2002)
3. **Kaya, S., Pirinççi, İ., Bilgili, A.**, “Farmakokinetik”, Kaya S, Pirinççi İ, Bilgili A(Eds):*Veteriner Uygulamalı Farmakoloji Cilt 1*, Baskı 2, Medisan, Ankara, s 64-67, (2001)
4. **Kayaalp, S.O.**, Klinik Farmakolojinin Esasları ve Temel Düzenlemeler, Genişletilmiş 2. Baskı Hacettepe TAŞ, H. Üniversitesi, 323-347, (2001)
5. **Traş, B., Yazar, E., Elmas, M.**, Veteriner hekimliğinde ilaç kullanımına pratik ve akılcı yaklaşım Selçuk Üniversitesi Basımevi, Konya,123–145, (2005)
6. **Toutain, P.L., Korintz, G.D.**, “Veterinary drugs bioequivalence determination” *J Vet Pharmacol Therap*, **20**, 79-90, (1997)
7. **Brown S.A., Chester, S.T., Speedy, A.K., Hubbard, V.L., Callahan, J.K., Hamlow, P.J., Hibbard, B., Robb, E.J.**, “Comparision of plasma pharmacokinetics and bioequivalence of ceftiofur sodium in cattle after a single intra-muscular or subcutaneous injection” *J Vet Pharmacol Therap*, **23**, 273-280, (2000)
8. **E.M.E.A.** (The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products Veterinary Medicines and information Technology) “Guidelines for the conduct of bioequivalence studies for veterinary medicinal products” 1-11. www.eudra.org/emea.html, 2001. [Erişim: 09.07.2002]
9. **Martinez, M., Langston, C., Martin, T., Conner, D.**, “Challenges associated with the evaluaiton of veterinary product bioeqivalence: an AAVPT perspective” *J Vet Pharmacol Therap*, **25**, 201-220, (2002)
10. **Jaraiz, V., Rodriguez, C., San Andres, M.D., Gonzalez, F., San Andres, M.I.** “Pharmacokinetics and bioequivalence of two suxibuzone oral dosage forms in horses” *J Vet Pharmacol Therap*, **22**, 247–254, (1999)
11. **Martinez, M.N., Pedersoli, W.M., Ravis, W.R., Jackson, J.D., Cullison, R.**, “Feasibility of interspecies extrapolation in determining the bioequivalence of animal products intended for intramuscular administration” *J Vet Pharmacol Therap*, **24**, 125-135, (2001)
12. **F.D.A.** (Food and Drug Administration) “Guidance for Industry” 1-27 www.fda.gov/cvm/guidance/bioeqapril1996 2000. [Erişim: 25.09.2002]
13. **McKellar, Q., Gibson, I., Monteiro, A., Bregante, M.**, “Pharmacokinetics of enrofloxacin and danofloxacin in plasma, inflammatory exudate, and bronchial secretions of calves following subcutaneous, administration” *Antimicrob Agent Chemother*, **43**, 1988-1992, (1999)

14. **Sumano, L.H., Ocampo, C.L., Gutierrez, O.L.**, “Non-bioequivalence of various trademarks of enrofloxacin and Baytril® in cows” *Dtsch Tierarztl Wochenschr*, **108**, 281–320, (2001a)
15. **Zintzaras, E., Bouka, P., Kowald, A.**, “Biometrical evaluation of bioequivalence trails using a bootstrap individual direct curve comparison method” *Euro Journal of Drug Metab and Pharma*, Vol.27, 1, pp 11-16, (2002)
16. **Altıntaş, L., Yarsan, E.**, “Bioequivalence of some sulphonamide formulations following oral administration in broilers” *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 15, **2**, 217-223, (2009)
17. **Yılmaz, İ.**, Enrofloksasin içeren iki farklı müstahzarın sığırlarda kas içi yolla uygulanması sonrasında biyoeşdeğerliğinin belirlenmesi *Selçuk Üniversitesi Sağlık Bil Enst, Doktora Tezi*, Konya (2007)
18. **Alp, H.**, “Bioequivalence of some sulphaquinoxaline formulations following oral administration in broiler chickens” *J Anim Vet Adv*, 7, **9**, 1174-1178, (2008)
19. **Lifschitz, A., Pis, A., Alvarez, L., Virkel, G., Sanchez, S., Sallovitz, J., Kujanek, R., Lanusse, C.**, “Bioequivalence of ivermectin formulations in pigs and cattle” *J Vet Pharmacol Therap* 22, 27-34, (1999)
20. **Sumano, L.H., Gutierrez, O.L., Zamora, M.A.**, “Bioequivalence of four preparations of enrofloxacin in poultry” *J Vet Pharmacol Therap*, **24**, 309-313, (2001b)
21. **Posyniak, A., Zmudzki, J., Niedzielska, J., Biernacki, B.**, “Bioequivalence study of two formulations of enrofloxacin following oral administration in chickens” *Bull Vet Inst Pulawy*, **45**, 353-358, (2001)
22. **Clark, T.P., Chieffo, C., Huhn, J.C., Nimz, E.L., Wang, C., Boy, M.G.**, “The steady-state pharmacokinetics and bioequivalence of carprofen administered orally and subcutaneously in dogs” *J Vet Pharmacol Therap*, **26**, 187–192, (2003)
23. **Cadiergues, M.C., Laguerre, C., Roques, M., Franc, M.**, “Evaluation of the bioequivalence of two formulations of deltamethrin for treatment of sheep with psoroptic mange” *AJVR*, Vol **65**, 2, February 151-154, (2004)
24. **Groen, K., Pereboom-De Fauw, D.P.K.H., Van Veen-Rutgers, A., Vultoi, A.G., De Neeling, A.J.**, “Bioavailability in the rabbit of penicillin and dihydrostreptomycin from three commercial penicillin/aminoglycoside fixed combination products for intramuscular injection” *J Vet Pharmacol Therap*, **19**, 364-369, (1996)

Received: 05.01.2010

Accepted: 08.04.2010