

ESTUDOS DE BIOEQUIVALÊNCIA DE MEDICAMENTOS

ETAPA ESTATÍSTICA



Profa. Associada Sílvia Storpirtis



***Faculdade de Ciências Farmacêuticas
da Universidade de São Paulo***

CONTEÚDO DA APRESENTAÇÃO

- *Importância da Etapa Estatística*
- *Nomenclatura Estatística em Bioequivalência*
- *Critério para Bioequivalência*
- *O Paradigma dos 20%*
- *Transformação Logarítmica*
- *Teste de Hipóteses*
- *Erros Alfa e Beta - Poder do Teste*
- *Análise de Variância (ANOVA)*
- *Efeito de Período*
- *Dados Anômalos*
- *Aceitação*
- *Exemplo Prático*



ETAPA ESTATÍSTICA - IMPORTÂNCIA

- **Limitar o risco** de uma falsa declaração de equivalência.
- **Demonstrar que é pouco provável uma diferença clínica significativa na BD** entre os medicamentos teste e referência.
- **Empregar os procedimentos estatísticos estabelecidos no protocolo.**



NOMENCLATURA ESTATÍSTICA EM BIOEQUIVALÊNCIA

- *T - Medicamento Teste; R: Medicamento de Referência*
- *μT ou μR : Média Geométrica de C_{max} ou ASC para os medicamentos T ou R*
- *Ponto Estimado: $\mu T / \mu R$*
- *IC 90% : Intervalo de Confiança 90%*



ESTATÍSTICA EM BIOEQUIVALÊNCIA

- *Estatística descritiva (medidas de tendência central e de dispersão).*
- *Transformação logarítmica dos dados originais.*
- *Análise de Variância (ANOVA).*
- *Estabelecimento do Ponto Estimado para ASC_{0-t} , $ASC_{0-\infty}$ e C_{max}*
- *Cálculo do IC 90% do Ponto Estimado (dois testes de uma cauda - Schuirmann, 1.981).*



CRITÉRIO PARA BIOEQUIVALÊNCIA

Dois produtos são bioequivalentes quando o Intervalo de Confiança de 90% para a diferença entre as médias (ou quociente entre as médias) de ASC e Cmax para os dois medicamentos não exceda $\pm 20\%$ (80% - 120%), ou 80% - 125% para parâmetros transformados logaritmicamente.

**CRITÉRIO COMUM PARA TODAS AS
AUTORIDADES REGULADORAS**



CRITÉRIO PARA BIOEQUIVALÊNCIA

O paradigma dos +/- 20%

CONSENSO DA COMUNIDADE CIENTÍFICA

“ +/- 20% significa a maior diferença aceitável entre duas formulações do mesmo fármaco, considerada sem relevância clínica”.



CRITÉRIO PARA BIOEQUIVALÊNCIA

O paradigma dos +/- 20%

+/- 20% NÃO SIGNIFICA 20% DE DIFERENÇA ENTRE CONCENTRAÇÕES PLASMÁTICAS DO TESTE EM RELAÇÃO AO REFERÊNCIA

- *JAMA*, v. 258, n. 9, 1.987 : 224 Estudos de BE (1.985-1.986):
Diferença menor que 3,5% para ASC
- *JAMA*, v. 282, n. 1, 1.999 : 127 Estudos de BE :
+/- 3,5% para ASC e +/- 4,29% para Cmax
- *Ann. Pharmacother.* 2.009 Oct; 43 (10): 1583-97:
1996 – 2007 : 2070 Estudos de BE (FF orais) n = 12 a 170
Diferenças: ASC(0-t) +/- 3,56% (em 98% diferença menor que 10%)
Cmax +/- 4,35%



TRANSFORMAÇÃO LOGARÍTMICA

Os parâmetros farmacocinéticos concentração dependentes (ASC e Cmax) devem ser log transformados empregando logaritmos na base 10 ou neperianos.

- *Garante a **adição** das fontes de variação.*
- *Tende a gerar uma distribuição log normal (ASC e Cmax): aplicação de métodos paramétricos.*



TESTE DE HIPÓTESES

<i>Estudo</i>	<i>H0</i> <i>($p \geq 0,05$)</i>	<i>H1</i> <i>($p < 0,05$)</i>
<i>Diferença</i> <i>(Sem limites)</i>	<i>A = B</i>	<i>A ≠ B</i>
<i>Equivalência</i> <i>(LI e LS)</i>	<i>A ≠ B</i> <i>Bioinequivalência</i>	<i>A = B</i> <i>Bioequivalência</i>

HIPÓTESES EM BIOEQUIVALÊNCIA

- *Hipótese nula - H₀:*

*Os medicamentos T e R **não** são bioequivalentes*

- *Hipótese 1 - alternativa - H_A:*

Os medicamentos T e R são bioequivalentes



*Portanto, se recusamos a Hipótese nula,
pode-se concluir que as formulações
são bioequivalentes (Schuirmann, 1.981)*

ERROS



- **Erro 1:** Aceitar que duas formulações são bioequivalentes, quando esta não é a realidade.
- **Error 2:** Aceitar que duas formulações não são bioequivalentes, quando na realidade são bioequivalentes.
- α : probabilidade de cometer o erro tipo 1
- β : probabilidade de cometer o erro tipo 2

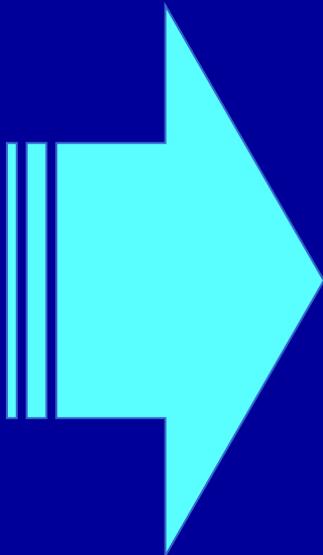
ERROS

O erro 1 é o mais grave e deve ser controlado ($\alpha = 0,05$).



Poder do Teste ($1 - \beta$):

A probabilidade de aceitar a bioequivalência corretamente.



PROCEDIMENTO DE DOIS TESTES UNILATERAIS

(Schuirmann, 1.987)

As hipóteses podem ser decompostas em dois conjuntos de hipóteses unilaterais:

- *Um conjunto para verificar se a B_d da formulação teste não é muito baixa (Limite Inferior = LI)*
- *Outro para verificar se a B_d da formulação teste não é muito alta (Limite Superior = LS)*

PROCEDIMENTO DE DOIS TESTES UNILATERAIS

(Schuirmann, 1.987)



Duas formulações não são equivalentes



Duas formulações são equivalentes

ANOVA

Os parâmetros farmacocinéticos concentração dependentes e log transformados devem ser analisados empregando análise de variância (ANOVA)

- *Modelo ANOVA inclui os **fatores de variabilidade** que dependem de:*
 - *formulação*
 - *sequência*
 - *sujeitos*
 - *período.*



EFEITOS - DESENHO 2 X 2

$$Y_{ijk} = \mu + S_{ik} + P_j + F_{(j,k)} + R_{(j-1,k)} + \varepsilon_{ijk}$$

Y_{ijk} : resposta do sujeito (ASC ou Cmax)

μ : média geral

S_{ik} : efeito do sujeito

P_j : efeito fixo - período

$F_{(j,k)}$: efeito fixo - formulação

$R_{(j-1,k)}$: efeito residual fixo

ε_{ijk} : erro aleatório (intra-sujeito).



EFEITOS - DESENHO 2 X 2

A presença de efeitos sequenciais pode ser aceita se:

- 1 - Estudo dose única - voluntários sadios***
- 2 - Fármaco não é um composto endógeno***
- 3 - Período de eliminação adequado***
- 4 - Amostras de pré-dose sem nível de fármaco detectável para todos os voluntários***
- 5 - O estudo atende a todos os critérios científicos e estatísticos propostos***



DADOS ANÔMALOS (“Outliers”)

- *Os métodos para identificar e manejar possíveis dados anômalos devem ser especificados no protocolo (possíveis explicações médicas ou farmacocinéticas).*
- *Podem indicar o fracasso do produto: não é aceitável a eliminação posterior dos mesmos, principalmente para desenhos não replicados.*



INTERVALO DE CONFIANÇA



**Informação
da amostra
do
estudo**

ESTIMATIVA



**Características da
população
em
geral**

O Intervalo de Confiança corresponde ao estimador que melhor expressa a incerteza estatística entre o valor obtido (da amostra do estudo) e o verdadeiro valor (populacional).

INTERVALO DE CONFIANÇA



CÁLCULO

- Os **antilogarítmos** dos limites de confiança obtidos constituem o **intervalo de confiança de 90%** para a razão das médias geométricas entre o medicamento teste e o medicamento de referência.

INTERVALO DE CONFIANÇA

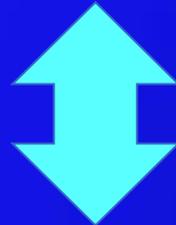


O QUE SIGNIFICA ?

*“Se realizamos uma série de **100 estudos** idênticos repetidamente com diferentes amostras de um mesmo lote, **90%** dos resultados obtidos estarão incluídos no verdadeiro valor”.*

OUTROS ESTUDOS

***ESTUDOS NO ESTADO ESTACIONÁRIO
(DOSES MÚLTIPLAS) OU DADOS DE EXCREÇÃO
URINÁRIA ?***



MESMO PROCEDIMENTO PARA ANÁLISE

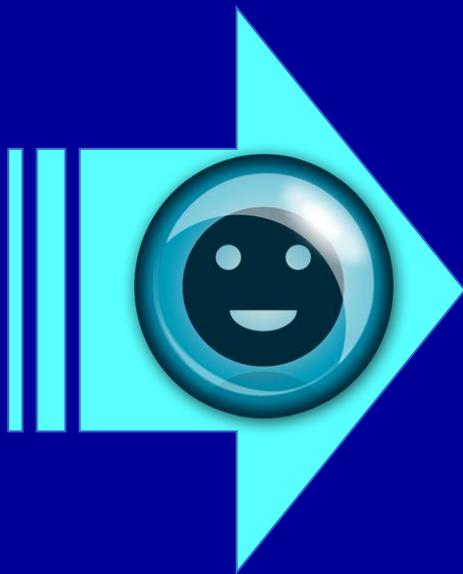
Tmax e t(1/2)

ESTATÍSTICA DESCRITIVA PARA Tmax e t(1/2)

- *Se é necessária a análise estatística de Tmax: empregar métodos não paramétricos com dados não transformados.*



ACEITAÇÃO - ASC



***EM GERAL,
O INTERVALO DE
CONFIANÇA DE 90% PARA
ASC DEVE ESTAR
DENTRO DE 0,8 - 1,25
(80 – 125%).***

ACEITAÇÃO - C_{max}

- *Em geral: 0,8 – 1,25 (80 - 125%)*
- *Em certos casos (variabilidade) pode-se aceitar uma faixa maior (0,75 - 1,33 = 75 - 133%).*



A faixa de aceitação empregada deve estar definida no protocolo considerando-se aspectos de eficácia e segurança.

ACEITAÇÃO - T_{max}

AVALIAÇÃO ESTATÍSTICA DE T_{max} ?

Quando há relevância clínica: ação ou potenciais efeitos adversos.

- FDA recomenda a determinação de ASC de 0 até T_{max} - publicada para o medicamento de referência como medida de equivalência.***



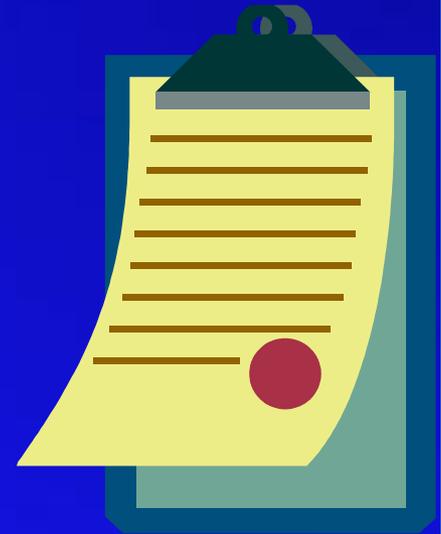
FAIXAS DE ACEITAÇÃO - CASOS ESPECIAIS (SHARGEL & KANFER, 2.010)

PAÍS	IC 90%		FÁRMACO / CONDIÇÃO
	ASC	C _{max}	
CANADÁ	90,0-112,0	80,0-125,0	FÁRMACOS CRÍTICOS - JEJUM E COM ALIMENTO
CANADÁ	80,0-125,0	-	FÁRMACOS NÃO COMPLICADOS - PONTO ESTIMADO PARA C _{max} DENTRO DE 80,0-125,0
EMA	80,0-125,0	75,0-133,0	JUSTIFICAR PREVIAMENTE QUE NÃO AFETA A SEGURANÇA E/OU EFICÁCIA
JAPÃO	80,0-125,0	80,0-125,0	<p>PODE CONSIDERAR BIOEQUIVALÊNCIA SE CUMPRE COM:</p> <ul style="list-style-type: none"> • POTO ESTIMADO DENTRO DE 90-110 • n=20 E/OU 30 (ESTUDO ADD-ON) • TESTE DE DISSOLUÇÃO T e R (SEMELHANÇA)
ÁFRICA DO SUL	80,0-125,0	75,0-133,0	NÃO INCLUEM FÁRMACOS DE ESTREITA FAIXA TERAPÊUTICA

EXEMPLO PRÁTICO - BE MÉDIA

CONSIDERANDO-SE:

- *Tabelas 1 e 2 - C_p x tempo (T e R)*
- *Tabela 3 - C_{max} ASC_{0-t} e $ASC_{0-\infty}$*
- *Tabela 4 - ANOVA In C_{max}*
- *Tabela 5 - ANOVA In ASC*
- *Tabela 6 - Intervalos de Confiança 90 %*



Tab. 1 Concentrações plasmáticas (ng/ml) ao longo do tempo do medicamento teste (T)

Tempo (h)	Voluntário											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
0,5	4,0	9,6	13,5	6,9	10,2	41,7	42,6	51,1	36,9	47,5	52,1	29,7
1	4,2	14,4	66,2	11,3	10,8	47,1	59,5	52,5	43,7	48,3	79,4	78,2
1,5	19,6	13,8	64,5	21,9	26,1	58,8	80,5	78,6	58,6	48,2	79,6	79,4
2	30,8	17,5	64,5	35,1	56,2	62,8	75,8	73,4	66,7	51,6	71,2	67,3
2,5	36,4	32,5	52,9	34,7	73,2	65,2	73,1	63,2	61,2	49,6	65,4	61,3
3	43,8	59,3	53,4	41,9	72,2	71,9	67,8	58,6	57,0	46,8	60,3	56,4
3,5	67,9	60,6	48,5	65,8	65,9	64,4	66,5	60,7	52,0	44,2	57,1	56,5
4	71,6	56,8	46,4	74,7	62,9	64,8	64,4	56,8	50,6	42,0	53,4	52,0
6	49,7	41,2	37,8	61,7	46,1	48,2	49,9	42,3	38,5	33,3	42,4	40,2
8	34,7	31,4	32,2	51,5	38,6	43,0	42,7	38,3	32,4	30,1	36,9	36,1
12	33,0	23,2	27,5	40,5	32,9	31,4	34,8	29,4	27,4	23,3	28,3	25,4
24	19,2	14,1	16,2	22,6	21,2	16,9	22,1	21,0	15,4	12,3	17,5	15,0
36	13,3	7,8	10,4	14,4	13,2	10,2	13,1	11,5	9,3	7,2	9,6	8,6
48	3,5	5,9	6,8	9,1	7,9	5,6	9,4	8,0	6,0	4,9	6,2	5,7
72	3,4	2,2	2,6	3,8	3,5	2,1	4,1	3,2	2,7	1,5	2,3	2,0

Tab. 2 Concentrações plasmáticas (ng/ml) ao longo do tempo do medicamento referência (R)

Tempo (h)	Voluntário											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
0,5	24,4	5,9	67,6	25,7	16,3	56,6	15,7	24,7	60,1	4,1	65,2	5,6
1	61,2	8,4	51,4	64,7	50,4	61,4	18,6	26,6	66,7	44,6	71,4	27,5
1,5	68,0	18,0	61,5	67,3	78,8	64,1	28,1	40,6	62,5	46,3	82,3	75,5
2	64,3	29,3	55,3	84,6	81,3	67,5	31,8	61,3	61,6	62,4	72,4	69,5
2,5	62,9	48,8	56,6	80,0	76,8	69,1	32,3	74,8	60,6	56,8	68,6	65,8
3	61,8	59,5	57,1	71,2	68,5	68,0	45,6	66,4	57,5	52,4	61,0	55,7
3,5	54,3	53,6	54,8	70,9	61,8	61,0	76,8	63,8	54,8	48,1	60,8	56,8
4	76,2	51,3	54,1	67,4	59,6	61,6	77,4	58,0	50,9	43,8	57,8	53,1
6	33,5	36,2	38,8	56,0	47,4	43,0	57,5	44,8	40,9	35,8	44,1	40,6
8	38,5	30,8	33,0	51,0	40,9	37,3	43,4	37,8	38,0	29,8	38,1	31,2
12	29,0	22,6	30,1	38,8	34,4	28,6	38,8	29,7	26,2	24,5	31,0	26,1
24	17,7	14,2	17,4	29,1	22,0	16,1	21,4	19,5	18,7	13,7	19,8	13,6
36	10,4	9,1	11,3	15,6	13,0	9,0	12,9	11,2	11,4	7,7	10,5	7,9
48	7,0	6,0	7,0	9,7	8,2	5,4	8,9	7,4	6,6	4,5	6,9	4,4
72	2,8	2,7	3,1	3,9	3,8	2,1	3,9	3,1	2,8	1,6	2,4	2,0

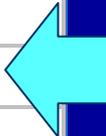
Tab. 3 Parâmetros farmacocinéticos dos indivíduos nos medicamentos teste e referência

Indivíduos	Seqüência	C_{max}		ASC_{0-t}		ASC_{0-inf}	
		teste	referência	teste	referência	teste	referência
1	RT	71,61	76,23	1155,00	1203,84	1230,36	1280,38
2	TR	60,61	59,51	932,13	941,86	988,25	1022,60
3	RT	66,24	67,60	1103,32	1193,31	1168,81	1279,42
4	TR	74,72	84,64	1456,95	1648,79	1559,72	1751,71
5	TR	73,20	81,25	1303,85	1397,37	1394,81	1509,19
6	RT	71,94	69,07	1213,54	1152,94	1261,25	1206,27
7	RT	80,48	77,39	1461,12	1395,65	1575,94	1509,92
8	RT	78,60	74,84	1295,92	1230,59	1378,47	1314,55
9	TR	66,69	66,68	1080,74	1193,96	1161,09	1262,69
10	TR	51,57	62,43	903,57	924,88	934,89	961,63
11	TR	79,55	82,31	1186,50	1280,80	1241,66	1337,75
12	RT	79,36	75,53	1080,55	990,65	1126,50	1037,57

ANÁLISE DE VARIÂNCIA PARA $\ln(C_{max})$

Tab.4 ANOVA para $\ln(C_{max})$

Fonte	gl	QM	Estatística F	Valor de P
Seqüência	1	0,0229	0,8389	0,3810
Voluntário (seq)	10	0,0273		
Período	1	0,0118	5,3889	0,0427
Tratamento	1	0,0048	2,2104	0,1679
Residual	10	0,0022		

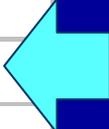


- *Efeito de período (valor de $P < 0,05$).*
- *Não existe efeito de seqüência ou de tratamento com relação ao parâmetro $\ln(C_{max})$.*

ANÁLISE DE VARIÂNCIA PARA $\ln(ASC_{0-t})$

Tab.5 ANOVA para $\ln(ASC_{0-t})$

Fonte	gl	QM	Estatística F	Valor de P
Seqüência	1	0,0050	0,0932	0,7665
Voluntário (seq)	10	0,0541		
Período	1	0,0112	7,4561	0,0212
Tratamento	1	0,0034	2,2825	0,1618
Residual	10	0,0015		



- *Efeito de período (valor de $P < 0,05$)*
- *Não existe efeito de seqüência ou de tratamento com relação ao parâmetro $\ln(ASC_{0-t})$*

INTERVALO DE CONFIANÇA DE 90% PARA OS PARÂMETROS C_{max} e ASC_{0-t}

Tabela 6: Intervalos de Confiança			
Parâmetros	razão(T/R)	lim. Inferior	lim. superior
C_{max}	97,2045	93,9021	100,6231
AUC_{0-t}	97,6372	94,8762	100,4786

- *IC de 90% para os parâmetros C_{max} e ASC_{0-t} dentro dos limites estabelecidos de 80 a 125%.*
- *Conclusão: Bioequivalência entre os Medicamentos Teste e Referência.*

WORKSHOP: "Aspectos Regulatórios Relacionados aos Medicamentos Genéricos e Similares"

1

ANVISA/GGMEG – Unidade de Bioequivalência

Brasília, 18-19 de março de 2003

**Principais exigências relativas aos estudos de
bioequivalência**

www.anvisa.gov.br/medicamentos/bioequivalencia/eventos/workshop/silvia.ppt

Principais causas para reprovação de estudos

- **Resultados dos IC 90% calculados para os parâmetros farmacocinéticos fora dos limites preconizados pela legislação**
- **Validação inadequada e problemas nos métodos analíticos**
- **Problemas no planejamento do estudo (desenho, lista de randomização, cronograma de coleta das amostras, etc)**

Principais exigências relativas aos estudos de bioequivalência

Relativas à etapa estatística:

- ANOVA realizada de forma inadequada
- retirada de *outliers*
- ausência de interpretação dos resultados emitidos pelo *software*
- decorrentes da não participação do estatístico na fase de planejamento do estudo

- **CHIANN, C. – Planejamento e Análise Estatística dos Estudos de Biodisponibilidade e Bioequivalência de Medicamentos. In: STORPIRTIS, S.; GONÇALVES, J.E.; CHIANN, C.; GAI, M.N. – Biofarmacotécnica – Coleção Ciências Farmacêuticas. Ed. Guanabara Koogan, cap. 10, p. 124-134, 2.009.**
- **SCHUIRMANN, D. A. - Comparison of the two one-sided test procedure and the power approach for assessing the equivalence of average bioavailability. J Pharm Biopharm 15 (6): 657-70, 1987.**
- **BOLTON, S. - Statistical considerations for establishing bioequivalence. In: SHARGEL, L. ; KANFER, I. – Generic Drug Product Development. Solid Oral Dosage Forms. Marcel Dekker, New York, c. 11, p. 257- 279, 2.005.**
- **INSTITUTO DE SALUD PÚBLICA DE CHILE. Guia Técnica G-BIOF 01 - Estudios de Biodisponibilidad Comparativa con Producto de Referencia (R) para Establecer Equivalencia Terapéutica, 2.007.**

- **CHOW, S.C.; LIU J. - *Design and Analysis of Bioavailability and Bioequivalence Studies 2nd Ed.*, Marcel Dekker, New York, 2.002.**
- **HAUCK, W. W.; ANDERSON, S. - *Types for Bioequivalence and Related Statistical Considerations. International Journal of Clinical Pharmacology, Therapy and Toxicology*, 30, 5, 181-187, 1.992.**
- **BRASIL. Resolução 898, de 29 de maio de 2.003. Diário Oficial da União. Brasília, 02 de junho de 2.003. Seção 1. Guia para Planejamento e Realização da Etapa Estatística de Estudos de Biodisponibilidade e Bioequivalência.**
- **SHARGEL, L. & KANFER, I. - *Generic Drug Product Development Solid Oral Dosage Forms*, Marcel Dekker, New York, 2.005, 381p.**
- **SHARGEL, L. & KANFER, I. - *Generic Drug Product Development International Regulatory Requirements for Bioequivalence*, Informa Healthcare, New York, 2.010, 309p.**

- **WHO Technical Report Series, n° 937, 2.006 – Annex 7: Multisource (generic) pharmaceutical products: guidelines on registration requirements to establish interchangeability - disponible en www.who.int**
- **US Dept of Health and Human Services, Food and Drug Administration, CDER. Guidance for Industry: Bioavailability and Bioequivalence Studies for Orally Administered Drug Products – General Considerations, March 2003.**
- **GUIDANCE FOR INDUSTRY - Bioequivalence Requirements: Critical Dose Drugs. Health Products and Food Branch (HPFB), Canada, 2.006.**
- **European Medicines Agency - Questions & Answers on the Bioavailability and Bioequivalence Guideline. (EMEA/CHMP/EWP/40326/2006).**