

RESOLUÇÃO-RE Nº 897, DE 29 DE MAIO DE 2003

O Adjunto da Diretoria Colegiada da Agência Nacional de Vigilância Sanitária, no uso da atribuição, que lhe confere a Portaria n.º 238, de 31 de março de 2003,

considerando o disposto no art.111, inciso II, alínea "a" § 3º do Regimento Interno aprovado pela Portaria nº 593, de 25 de agosto de 2000, republicada no DOU de 22 de dezembro de 2000, considerando que a matéria foi submetida à apreciação da Diretoria Colegiada, que a aprovou em reunião realizada em 6 de março de 2003, resolve:

Art. 1º Determinar a publicação do "Guia para isenção e substituição de estudos de bioequivalência", em anexo.

Art. 2º Fica revogada a Resolução RE nº 481, de 19 de março de 2002.

Art. 3º Esta Resolução entra em vigor na data de sua publicação.

DAVI RUMEL

ANEXO

GUIA PARA ISENÇÃO E SUBSTITUIÇÃO DE ESTUDOS DE BIOEQUIVALÊNCIA

1. Os estudos de bioequivalência são dispensados para os seguintes tipos de medicamentos:

1.1. medicamentos administrados por via parenteral (intravenosa, intramuscular, subcutânea ou intratecal), como soluções aquosas que contêm o mesmo fármaco, na mesma concentração em relação ao medicamento referência e excipientes de mesma função, em concentrações compatíveis.

1.2. soluções de uso oral que contêm o mesmo fármaco, na mesma concentração em relação ao medicamento referência e que não contêm excipientes que afetem a motilidade gastrointestinal ou a absorção do fármaco.

1.3. pós para reconstituição que resultem em solução que cumpra com os requisitos (1.1) e (1.2).

1.4. gases.

1.5. soluções aquosas otológicas e oftálmicas que contêm o mesmo fármaco, nas mesmas concentrações em relação ao medicamento referência e excipientes de mesma função, em concentrações compatíveis.

1.6. para medicamentos de uso tópico, não destinados a efeito sistêmico, contendo o mesmo fármaco, na mesma concentração em relação ao medicamento referência e excipientes de mesma função, em concentrações compatíveis, destinados ao uso otológico e oftálmico, que se apresentem na forma de suspensão, devem ser apresentados os resultados de estudos farmacodinâmicos que fundamentem a equivalência terapêutica, sendo que o modelo de estudo farmacodinâmico deve ser aprovado previamente pela ANVISA.

1.7. medicamentos inalatórios ou sprays nasais administrados com ou sem dispositivo, apresentados sob forma de solução aquosa e contendo o mesmo fármaco, na mesma concentração em relação ao medicamento referência e excipientes de mesma função, em concentrações compatíveis.

1.8. medicamentos de uso oral cujos fármacos não sejam absorvidos no trato gastrointestinal.

2. Casos em que a bioequivalência pode ser substituída pela equivalência farmacêutica:

2.1. no caso de medicamentos genéricos de liberação imediata e cápsulas de liberação modificada (retardada ou prolongada), com várias dosagens, mesma forma farmacêutica e formulações proporcionais, fabricados pelo mesmo produtor, no mesmo local de fabricação, o(s) estudo(s) de bioequivalência deverá(ão) ser realizado(s) com a maior dosagem ficando isentas desse estudo as de menor dosagem, caso os perfis de dissolução dos fármacos, entre todas as dosagens, sejam comparáveis conforme o GUIA PARA ENSAIOS DE DISSOLUÇÃO PARA FORMAS FARMACÊUTICAS SÓLIDAS ORAIS DE LIBERAÇÃO IMEDIATA (FFSOLI). Não sendo possível utilizar a maior dosagem no estudo de bioequivalência deve-se justificar tecnicamente. Esta regra se aplica aos fármacos que apresentam farmacocinética linear na faixa terapêutica.

2.2. no caso de comprimidos de liberação modificada (retardada ou prolongada) com várias dosagens, mesma forma farmacêutica, formulações proporcionais, mesmo mecanismo de liberação do fármaco, fabricados pelo mesmo produtor, no mesmo local de fabricação, os estudos de bioequivalência deverão ser realizados com a maior dosagem ficando isentas desses estudos as de menor dosagem, caso os perfis de dissolução dos fármacos, entre todas as dosagens, sejam comparáveis conforme o GUIA PARA ENSAIOS DE DISSOLUÇÃO PARA FORMAS FARMACÊUTICAS SÓLIDAS ORAIS DE LIBERAÇÃO IMEDIATA (FFSOLI). Para essa comparação deverão ser utilizados 3 (três) meios de dissolução diferentes (por exemplo, pH 1,2; 4,5 e 6,8). Adicionalmente, também deverão ser apresentados os perfis de dissolução comparativos entre todas as dosagens do produto teste e do referência.

2.3. para medicamentos isentos de prescrição médica, que contenham os fármacos ácido acetilsalicílico, paracetamol, dipirona ou ibuprofeno, na forma farmacêutica sólida, haverá isenção do estudo de bioequivalência caso o perfil de dissolução seja comparável ao do medicamento de referência, empregando-se os critérios de comparação descritos no GUIA PARA ENSAIOS DE DISSOLUÇÃO PARA FORMAS FARMACÊUTICAS SÓLIDAS ORAIS DE LIBERAÇÃO IMEDIATA (FFSOLI).

2.4. medicamentos de aplicação tópica, exceto os previstos no item 1.6, na mesma concentração em relação ao medicamento de referência e excipientes de mesma função, em concentrações compatíveis.

RESOLUÇÃO-RE Nº 898, DE 29 DE MAIO DE 2003

O Adjunto da Diretoria Colegiada da Agência Nacional de Vigilância Sanitária, no uso da atribuição, que lhe confere a Portaria n.º 238, de 31 de março de 2003,

considerando o disposto no art.111, inciso II, alínea "a" § 3º do Regimento Interno aprovado pela Portaria nº 593, de 25 de agosto de 2000, republicada no DOU de 22 de dezembro de 2000, considerando que a matéria foi submetida à apreciação da Diretoria Colegiada, que a aprovou em reunião realizada em 6 de março de 2003, resolve:

Art. 1º Determinar a publicação do "Guia para planejamento e realização da etapa estatística de estudos de biodisponibilidade relativa/bioequivalência" anexo.

Art. 2º Fica revogada a Resolução RE nº 484, de 19 de março de 2002.

Art. 3º Esta Resolução entra em vigor na data de sua publicação.

DAVI RUMEL

ANEXO

GUIA PARA PLANEJAMENTO E REALIZAÇÃO DA ETAPA ESTATÍSTICA DE ESTUDOS DE BIODISPONIBILIDADE RELATIVA/BIOEQUIVALÊNCIA

1. Introdução

O objetivo deste guia é fornecer algumas recomendações gerais para análise estatística nos estudos de biodisponibilidade relativa/bioequivalência.

2. Planejamento

Um dos critérios para escolher um delineamento apropriado é verificar se o delineamento selecionado pode identificar e isolar a variabilidade inter-individual na análise de dados. Qualquer delineamento que venha remover essa variação da comparação entre formulações pode ser apropriado.

O planejamento experimental mais utilizado nos ensaios de biodisponibilidade relativa/ bioequivalência é o cruzado (crossover), cujos detalhes serão discutidos nesse guia.

2.1 Período de eliminação (washout) e efeitos residuais (carry-over effects)

É importante introduzir os conceitos de período de eliminação e efeitos residuais num planejamento de estudo cruzado, pois a presença de efeitos residuais tem um grande impacto na inferência estatística de bioequivalência entre formulações.

O período de eliminação é definido como um intervalo de tempo suficientemente grande entre dois períodos de administração para que o efeito residual de uma formulação administrada num período seja eliminado até o próximo.

O experimento cruzado deve ser usado quando não existe efeito residual nos tratamentos. Se um fármaco tem uma meia vida longa ou se o intervalo entre os períodos de tratamento é muito curto, o efeito do mesmo pode persistir depois do fim de período de eliminação (efeito residual). Neste caso, é necessário distinguir a diferença entre o efeito do fármaco e os efeitos residuais. O efeito do fármaco é aquele observado durante o período no qual ele é administrado.

2.2 Descrição do planejamento

O estudo cruzado é um planejamento de blocos aleatorizados modificados nos quais cada bloco recebe mais de uma formulação de um mesmo fármaco em períodos diferentes. Um bloco pode ser um indivíduo ou um grupo de indivíduos. Os indivíduos em cada bloco recebem uma seqüência diferente de formulações. As vantagens em se utilizar esse planejamento para estudos de biodisponibilidade relativa/bioequivalência são:

- cada indivíduo serve como seu próprio controle, o que permite uma comparação do indivíduo com ele mesmo, para as diferentes formulações;

- a variabilidade inter-individual é removida da comparação entre formulações, o que torna o teste de diferença de tratamentos em geral mais poderoso;

- com uma aleatorização apropriada de indivíduos para a seqüência de administração das formulações, o planejamento produz as melhores estimativas não viciadas para diferença (ou razão) entre formulações.

2.3 Considerações de um delineamento básico

Recomenda-se que um delineamento básico para um estudo de biodisponibilidade in vivo deve considerar:

- questões científicas a serem respondidas;
- natureza do material de referência e a forma farmacêutica a ser testada;

- disponibilidade de métodos analíticos;
- considerações do benefício do teste em seres humanos.

Além disso, algumas considerações específicas para um estudo de biodisponibilidade relativa/bioequivalência são dadas a seguir.

2.3.1. Delineamento experimental

Para um estudo de biodisponibilidade relativa/bioequivalência (dose simples ou múltipla) deve ser adotado um delineamento do tipo cruzado, a não ser que um delineamento paralelo ou algum outro seja mais apropriado por razões científicas válidas. No caso de delineamento paralelo, cada indivíduo recebe ao acaso somente uma das formulações.

O planejamento adequado do experimento deve ter como objetivo minimizar a variabilidade que pode advir de várias fontes:

- variabilidade inter-individual.
- variabilidade intra-individual.

- efeito dos períodos, que pode ser causado por ação residual de tratamentos precedentes;

- erro experimental.

- variabilidade associada a tratamentos diferentes, como administração de produtos ou dosagens diferentes.

2.3.2. Aleatorização

Inferências estatísticas válidas são normalmente baseadas nas suposições de que os erros do modelo empregado são variáveis aleatórias independentemente distribuídas, o que pode ser assegurado através da aleatorização. A forma de aleatorização é feita de acordo com o delineamento a ser utilizado no estudo.

2.3.3. Cronograma de coleta

2.3.4. Período de eliminação

2.3.5. Número de voluntários

O número de voluntários sadios deverá sempre assegurar poder estatístico suficiente para garantir a confiabilidade dos resultados do estudo de biodisponibilidade relativa/bioequivalência.

2.4 Tipos de desenho

ESTA SEÇÃO DESCREVE OS DESENHOS COMUMENTE UTILIZADOS NOS ESTUDOS DE BIODISPONIBILIDADE RELATIVA/BIOEQUIVALÊNCIA.

2.4.1. Delineamento cruzado para dois medicamentos (T = teste; R = referência)

a) Delineamento cruzado 2x2

É um delineamento convencional não replicado com duas formulações, dois períodos, duas seqüências, que pode ser representado como segue:

Seqüência	Período	
	1	2
1	R	T
2	T	R

Cada indivíduo é aleatoriamente alocado para a seqüência RT ou TR em dois períodos. Isto é, indivíduos alocados na seqüência RT (TR) recebem formulação R (T) no primeiro período de administração e formulação T (R) no segundo. Os períodos são separados por um período de eliminação adequado.

Aleatorização para um estudo cruzado 2x2 pode ser feita através de tabelas de números aleatórios ou procedimentos de aleatorização implementados em softwares estatísticos.

b) Delineamento cruzado replicado

Este delineamento é recomendado para estudos de biodisponibilidade relativa/bioequivalência de produtos com fármacos de alta variabilidade (coeficiente de variação intra-individual $\geq 30\%$), incluindo aqueles que são de liberação imediata, liberação modificada e outros produtos de administração oral.

Para este delineamento os mesmos lotes das formulações teste e referência devem ser usados para a administração replicada. Os períodos devem ser suficientemente espaçados para garantir a inexistência do efeito residual.

Os desenhos cruzados replicados mais comumente usados para comparar duas formulações são:

I. Delineamento com quatro seqüências e dois períodos (delineamento de Balaam):

Seqüência	Período	
	1	2
1	T	T
2	R	R
3	R	T
4	T	R

II. Delineamento com duas seqüências e quatro períodos:

Seqüência	Período			
	1	2	3	4
1	T	R	R	T
2	R	T	T	R

III. Delineamento com quatro seqüências e quatro períodos:

Seqüência	Período			
	1	2	3	4
1	T	T	R	R
2	R	R	T	T
3	T	R	R	T
4	R	T	T	R

IV. Delineamento com duas seqüências e três períodos:

Seqüência	Período		
	1	2	3
1	T	R	T
2	R	T	R



Ou

Seqüência	Período		
	1	2	3
1	T	R	R
2	R	T	T

Um número maior de voluntários é recomendado para o delineamento de três períodos, comparado com o delineamento de quatro períodos, para poder alcançar o mesmo poder estatístico para o teste.

c) Delineamento cruzado para três medicamentos (delineamento de Williams com T1 = teste 1, T2 = teste 2, R = referência)

Para comparar três formulações de um fármaco, existem três possíveis pares de comparações: formulação 1 versus formulação 2, formulação 1 versus formulação 3 e formulação 2 versus formulação 3. Quando o número de formulações a serem comparadas é grande, mais seqüências e conseqüentemente mais indivíduos serão necessários, o que pode ser inviável. Um delineamento de uso prático proposto por Williams (1949) possui propriedades de balanceamento e requer poucas seqüências e períodos. Um delineamento é dito balanceado se satisfaz as seguintes condições:

- cada medicamento é aplicado somente uma vez em cada voluntário;
 - em cada período, o número de voluntários que recebem cada medicamento tem que ser igual;
 - o número de voluntários que recebem o medicamento i em algum período seguido pelo medicamento j no período seguinte é o mesmo para todo i ≠ j.
- Um delineamento de Williams é ilustrado como segue:

Seqüência	Período		
	1	2	3
1	R	T2	T1
2	T1	R	T2
3	T2	T1	R
4	T1	T2	R
5	T2	R	T1
6	R	T1	T2

d) Delineamento cruzado para quatro medicamentos (delineamento de Williams):

Seqüência	Período			
	1	2	3	4
1	R	T3	T1	T2
2	T1	R	T2	T3
3	T2	T1	T3	R
4	T3	T2	R	T1

2.5 Seleção do delineamento experimental

Selecionar um delineamento apropriado ao planejar um estudo de biodisponibilidade relativa/bioequivalência é uma questão importante. A resposta dessa questão depende de vários fatores, tais como:

- número de formulações a serem comparadas;
- características do fármaco e sua biodisponibilidade;
- objetivo do estudo;
- variabilidade inter e intra individuais;
- duração do estudo e número de períodos empregados;
- custo de adição de um voluntário relativo à adição de um período;
- taxa de desistência (dropout).

A análise dos dados, a interpretação dos resultados e a determinação de bioequivalência entre as formulações, dependem diretamente do delineamento selecionado. Portanto, todos os fatores citados acima devem ser cuidadosamente avaliados para que um delineamento apropriado seja escolhido.

3 Análise Estatística

3.1 Transformação logarítmica

3.1.1 Procedimento geral

Este guia recomenda que os valores dos parâmetros (ASC e C_{max}) sejam transformados usando logaritmo natural ou logaritmo comum em base 10. A escolha de logaritmo natural ou comum deve ser consistente e deve ser especificada no relatório de estudo.

A limitação do tamanho de amostra utilizada num estudo típico de biodisponibilidade relativa/bioequivalência impede uma determinação confiável de distribuição do conjunto de dados. Não é recomendável testar normalidade de distribuição de erros depois de transformação logarítmica, nem se deve utilizar normalidade de distribuição de erros como uma razão para fazer análise estatística nas escalas originais. Justificativas devem ser apresentadas no caso em que se considera que é melhor realizar a análise estatística nas escalas originais do que nas escalas logarítmicas.

3.1.2 Justificativas para utilização de transformação logarítmica

a) Justificativa em relação ao tratamento de dados

Em geral, uma comparação preliminar de interesse num estudo de biodisponibilidade relativa/bioequivalência é a utilização da razão ao invés da diferença, entre as médias dos parâmetros farmacocinéticos (ASC e C_{max}) dos dados do produto teste e de referência. Usando transformação logarítmica, o modelo linear generalizado empregado na análise de dados permite fazer inferências estatísticas sobre a diferença entre duas médias na escala logarítmica,

as quais podem ser re-transformadas em inferências estatísticas sobre a razão das duas médias na escala original (Schuirmann, 1989).

b) Justificativa em relação a farmacocinética
Westlake (1973, 1988) observou que um modelo multiplicativo é adequado para medidas farmacocinéticas (ASC e C_{max}) num estudo de biodisponibilidade relativa/bioequivalência. Assumindo que a eliminação do fármaco é de primeira ordem e somente ocorre a partir do compartimento central, a seguinte equação é obtida após uma administração extravascular (oral):

$$ASC_{0-\infty} = FD/CL = FD/(Vd.K_e)$$

onde: F é a fração absorvida, D é a dose administrada, e FD é a quantidade do fármaco absorvido. CL é o "clearance" de um dado voluntário, o qual é o produto do volume de distribuição aparente (Vd) e da constante de velocidade de eliminação (K_e). Portanto, o uso de ASC como uma medida da quantidade de medicamento absorvido envolve um termo multiplicativo (CL), o qual pode ser considerado como uma função do voluntário. Por essa razão, Westlake mostra que o efeito de voluntário não é aditivo se os dados são analisados na escala original.

A transformação logarítmica da ASC resulta num tratamento aditivo:

$$\log ASC_{0-\infty} = \log F + \log D - \log V - \log K_e$$

Argumentos semelhantes foram dados para C_{max}.

3.2 Análise dos dados

Os métodos paramétricos de modelos lineares generalizados são recomendáveis para a análise de medidas farmacocinéticas transformadas em logaritmo num estudo de biodisponibilidade relativa/bioequivalência. Uma análise de variância (ANOVA) deve ser empregada nos parâmetros farmacocinéticos ASC e C_{max} usando modelos lineares generalizados. Modelos estatísticos apropriados de acordo com o desenho escolhido no estudo devem ser empregados. Por exemplo, para um estudo convencional do tipo cruzado 2x2, o modelo estatístico normalmente inclui fatores de seqüência, voluntário dentro de seqüência, período e tratamento. O resultado deve ser representado como a seguir (tabela ANOVA):

Fonte	Grau de liberdade	Quadrado médio	Estatística F	Valor de P
Seqüência	1	(1)	F ₁ =(1)/(2)	
voluntário (seqüência)	N-2	(2)		
Período	1	(3)	F _p =(3)/(5)	
Tratamento	1	(4)	F _t =(4)/(5)	
Residual	N-2	(5)		

Os efeitos de seqüência, de período e de tratamento devem ser testados usando estatísticas F_r, F_p e F_t indicadas na tabela ANOVA, respectivamente. Deve-se notar que a igualdade entre tratamentos (inexistência de efeito de tratamento) não implica na bioequivalência entre formulações. A construção do intervalo de confiança de 90% para a diferença das médias deve ser baseada nas médias de mínimos quadrados dos dados transformados em logarítmicos e no quadrado médio residual dessa ANOVA. Os antilogaritmos dos limites de confiança obtidos constituem o intervalo de confiança de 90% para a razão das médias geométricas entre os produtos teste e referência. A conclusão de bioequivalência média é alcançada quando este intervalo de confiança está compreendido entre 80 e 125%. Este método é equivalente ao procedimento de dois testes unicaudais correspondentes à hipótese nula de bioinequivalência, com nível de significância de 5%.

4. Efeito de seqüência

A presença de efeitos seqüenciais (residuais) no estudo deve ser justificada. Para um estudo cruzado 2x2, a presença de efeitos seqüenciais pode ser aceita se alguns critérios forem observados:

- é um estudo de dose única;
 - estudo envolve somente voluntários saudáveis;
 - o fármaco não é uma substância endógena;
 - um período de eliminação adequado foi estabelecido e as amostras de pré-dosagem não apresentam qualquer nível de fármaco detectável em todos os voluntários;
 - o estudo satisfaz todos os critérios científicos e estatísticos (por exemplo, protocolo, validação, dados de concentração, análise estatística, intervalo de confiança).
- Sob outras circunstâncias, o estudo deve ser refeito.

5. Considerações de outliers

NO ESTUDO DE BIODISPONIBILIDADE RELATIVA/BIOEQUIVALÊNCIA COM DESENHO CRUZADO, OS PONTOS DISCREPANTES SÃO DEFINIDOS COMO AQUELES EM QUE ALGUNS VOLUNTÁRIOS (OUTLIERS) DIFEREM NOTAVELMENTE DOS DEMAIS VOLUNTÁRIOS DO ESTUDO COMPARANDO PRODUTO TESTE E REFERÊNCIA NO PRÓPRIO VOLUNTÁRIO. A EXISTÊNCIA DE UM OUTLIER SEM VIOLAÇÃO DO PROTOCOLO PODE INDICAR UMA DAS SEGUINTES SITUAÇÕES:

A) FALHA DO PRODUTO: NESTE CASO, UMA RESPOSTA ANORMAL PODE ESTAR PRESENTE TANTO PARA PRODUTO TESTE QUANTO PARA PRODUTO REFERÊNCIA;

B) SUBPOPULAÇÃO: ISTO PODE OCORRER QUANDO UM INDIVÍDUO REPRESENTA UMA POPULAÇÃO, NA QUAL A BIODISPONIBILIDADE DE DOIS PRODUTOS É NOTAVELMENTE DIFERENTE DA MAIORIA DA POPULAÇÃO.

Devido esses fatos, em geral, a exclusão de outliers não é recomendável, principalmente para desenhos não replicados.

6. O poder do teste e tamanho da amostra

O poder do teste de um estudo de biodisponibilidade relativa/bioequivalência é definido como a probabilidade de aceitar a bioequivalência entre produto teste e referência corretamente. Durante a etapa de planejamento, uma das questões mais importantes é quantos voluntários são necessários para obter um poder desejado (por exemplo, 80%) estabelecendo bioequivalência entre duas formulações dentro dos limites clinicamente importantes (por exemplo, 20% da média do referência). Para responder essa questão, a metodologia comumente utilizada é escolher um tamanho de amostra apropriado através do cálculo da função do poder do teste baseado numa estimativa de coeficiente de variação intra-individual obtida através da literatura ou de um estudo piloto.

Na literatura, existem diversas maneiras para determinar o tamanho da amostra. Neste guia, é apresentada uma fórmula aproximada (Chow & Liu) para calcular o tamanho da amostra de um desenho cruzado 2x2 baseada na função de poder do teste por hipótese de intervalo de Schuirmann. A determinação do tamanho da amostra para outros tipos de desenho deve ser feita de maneira análoga.

Define-se a medida $\theta = \mu_T - \mu_R$, ou seja, θ mede a verdadeira diferença entre as médias do produto teste e referência. Num estudo de bioequivalência média, considerando a regra de 20% com $\Delta=0,2 \mu_R$, para alcançar um poder de $(1-\beta)$ com nível de significância α , o tamanho da amostra para cada seqüência é:

$$a) \text{ no caso de } \theta = 0, n \geq [t(\alpha, 2n-2) + t(\beta/2, 2n-2)]^2 (CV/20)^2;$$

$$b) \text{ no caso de } \theta \neq 0, n \geq [t(\alpha, 2n-2) + t(\beta, 2n-2)]^2 [CV/(20-\eta)]^2,$$

$$\text{onde } \eta = 100 \times \theta / \mu_R = 100 \times (\mu_T - \mu_R) / \mu_R.$$

Nas duas fórmulas apresentadas acima, CV representa o coeficiente de variação intra-individual e t(a,b) representa o valor crítico da distribuição t de Student, ao nível de significância a com b graus de liberdade.

O total de voluntários necessários para um desenho cruzado 2x2 é:

$$N = 2n$$

Como o grau de liberdade (2n-2) apresentado na fórmula é desconhecido, um procedimento iterativo é necessário para obtenção do valor de n. Para ilustrar este procedimento, apresenta-se o seguinte exemplo.

Exemplo: Para conduzir um estudo de bioequivalência média utilizando desenho cruzado 2x2 e a regra de 20% de diferença entre duas formulações, deseja-se determinar o número de voluntários necessários para obter um poder de 80% detectando uma diferença de 20% entre duas formulações. Supondo que o CV neste exemplo é 20%.

Em primeiro lugar, considera-se o caso onde $\theta = 0$,

I) começando com um chute inicial: n=12;

II) então, temos o grau de liberdade 2n-2=22;

III) utiliza-se $\alpha = 0,05$ e $\beta = 0,2$, temos

$$t(0,05, 22) = 1,717 \text{ e } t(0,1, 22) = 1,321;$$

$$IV) n \geq (1,717 + 1,321)^2 (20/20)^2 \approx 9,2;$$

V) agora use-se n = 10 como um valor inicial para próxima iteração;

$$VI) 2n-2 = 18, t(0,05, 18) = 1,734 \text{ e } t(0,1, 18) = 1,330;$$

$$VII) n \geq (1,734 + 1,330)^2 (20/20)^2 \approx 9,4;$$

VIII) como essas duas iterações resultaram uma resposta similar de 10 voluntários para cada seqüência, um total de 20 voluntários deve ser necessário no sentido de obter um poder 80% para detectar uma diferença de 20% entre duas formulações para o caso de $\theta = 0$.

Agora considera-se o caso de $\theta = 0,05 \mu_R$,

I) começando com um chute inicial: n=14;

II) então, temos o grau de liberdade 2n-2=26;

III) utiliza-se $\alpha = 0,05$ e $\beta = 0,2$, temos

$$t(0,05, 26) = 1,706 \text{ e } t(0,2, 26) = 0,856;$$

$$IV) n \geq (1,706 + 0,856)^2 [20/(20-5)]^2 \approx 11,66;$$

V) para próxima iteração, utiliza-se n = 12 como um valor inicial;

$$VI) 2n-2 = 22, t(0,05, 22) = 1,717 \text{ e } t(0,2, 22) = 0,858;$$

$$VII) n \geq (1,717 + 0,858)^2 [20/(20-5)]^2 \approx 11,79;$$

VIII) portanto, um total de 24 voluntários deve ser necessário no sentido de obter um poder 80% para detectar uma diferença de 20% entre duas formulações para o caso de $\theta = 0,05 \mu_R$.

A tabela a seguir apresenta o total de tamanho da amostra necessário para alcançar um poder desejado para um desenho cruzado 2x2 de diversas combinações entre θ e CV.

Poder	CV(%)	100 X ($\mu_T - \mu_R$) / μ_R			
		0%	5%	10%	15%
80%	10	8	8	16	52
	12	8	10	20	74
	14	10	14	26	100
	16	14	16	34	126
	18	16	20	42	162
	20	20	24	52	200
	22	24	28	62	242
	24	28	34	74	288
	26	32	40	86	336
	28	36	46	100	390
	30	40	52	114	448
	32	46	58	128	508
34	52	66	146	574	
36	58	74	162	644	
38	64	82	180	716	
40	70	90	200	794	
90%	10	10	10	20	70
	12	10	14	28	100
	14	14	18	36	136
	16	16	22	46	178
	18	20	28	58	224
	20	24	32	70	276
	22	28	40	86	334
	24	34	46	100	396
	26	40	54	118	466
	28	44	62	136	540
	30	52	70	156	618
	32	58	80	178	704
34	66	90	200	794	
36	72	100	224	890	
38	80	112	250	992	
40	90	124	276	1098	

7. Outras considerações

O critério da bioequivalência média é recomendado para uma comparação entre as medidas farmacocinéticas de interesse na maioria dos estudos de biodisponibilidade relativa/bioequivalência. Entretanto, na literatura, existem os critérios de bioequivalência individual e populacional que também podem ser muito úteis em algumas circunstâncias.

A bioequivalência média focaliza-se somente na comparação das médias populacionais de medidas farmacocinéticas de interesse e não nas variâncias dessas medidas. Este método não leva em consideração a variância associada à interação entre indivíduos e formulações, ou seja, a variação entre as médias dos produtos teste e referência devido às diferenças existentes entre os indivíduos. Já os critérios de bioequivalência individual e populacional incluem as comparações além das médias, as respectivas variâncias associadas às medidas farmacocinéticas de estudo. O critério da bioequivalência populacional avalia a variabilidade total das medidas de interesse. O critério de bioequivalência individual engloba a variabilidade intra-individual dos produtos teste e referência, bem como as interações entre indivíduos e formulações.

Hauck & Anderson (1992) apresentam considerações e comparações dos três tipos de bioequivalência, bem como as indicações para a construção dos intervalos de confiança.

8. Referências Bibliográficas

- Chow, S.C.; Liu, J-P. Design and Analysis of Bioavailability and Bioequivalence Studies. New York: Marcel Dekker, 2000
- Diletti, E.; Hauschke, D.; Steinijans, V.W. Sample Size Determination for Bioequivalence Assessment By Means of Confidence Intervals. Int. J. Clin. Pharmacol. Therap., 29:1-8, 1991
- Guidance for industry - Statistical Approaches to Establishing Bioequivalence
- U.S. Department of Health and Human Services; FDA - CDER, January 2001.
- Hauck, W.W.; Anderson, S. Types of Bioequivalence and Related Statistical Considerations. Int. J. Clin. Pharmacol. Therap., 30:181-7, 1992.
- Liu, J-P. Use of the Repeated Crossover Designs in Assessing Bioequivalence. Stat. Med., 14:1067-78, 1995.
- Schuurmann, D.J. Treatment of Bioequivalence Data: Log Transformation, in Proceedings of Bio-International' 89 - Issues in the Evaluation of Bioavailability Data, Toronto, Canada, October 1-4, 1989.
- Westlake, W.J. The Design and Analysis of Comparative Blood-Level Trials, in Current Concepts in the Pharmaceutical Sciences. Dosage Form Design and Bioavailability (J.Swarbrick, ed.), Lea and Febiger, 149-79, 1973.
- Westlake, W.J. Bioavailability and Bioequivalence of Pharmaceutical Formulations, in Biopharmaceutical Statistics for Drug Development (K.E.Peace, ed.), Marcel Dekker, Inc., 329-52, 1988.

1.10. Os testes são classificados em 4 categorias, conforme a Tabela 1.

Tabela 1. Classificação dos testes, segundo sua finalidade:

Categoria	Finalidade do teste
I	Testes quantitativos para a determinação do princípio ativo em produtos farmacêuticos ou matérias-primas
II	Testes quantitativos ou ensaio limite para a determinação de impurezas e produtos de degradação em produtos farmacêuticos e matérias-primas
III	Testes de performance (por exemplo: dissolução, liberação do ativo)
IV	Testes de identificação

1.11. Para cada categoria será exigido um conjunto de testes, relacionados na Tabela 2.

Tabela 2. Ensaio necessários para a validação do método analítico, segundo sua finalidade:

Parâmetro	Categoria I	Categoria II		Categoria III	Categoria IV
		Quantitativo	Ensaio limite		
Especificidade	Sim	Sim	Sim	*	Sim
Linearidade	Sim	Sim	Não	*	Não
Intervalo	Sim	Sim	*	*	Não
Precisão	Repetibilidade	Sim	Não	Sim	Não
	Intermediária	**	**	**	Não
Limite de detecção	Não	Não	Sim	*	Não
Limite de quantificação	Não	Sim	Não	*	Não
Exatidão	Sim	Sim	*	*	Não
Robustez	Sim	Sim	Sim	Não	Não

* pode ser necessário, dependendo da natureza do teste específico.

** se houver comprovação da reprodutibilidade não é necessária a comprovação da Precisão Intermediária.

1.12. metodologia analítica deverá ser revalidada nas seguintes circunstâncias:

- 1.12.1. mudanças na síntese da substância ativa;
- 1.12.2. mudanças na composição do produto acabado;
- 1.12.3. mudanças no procedimento analítico.

Determinadas outras mudanças podem requerer validação também, dependendo da natureza das mudanças.

2. Metodologia

2.1. Especificidade e Seletividade

É a capacidade que o método possui de medir exatamente um composto em presença de outros componentes tais como impurezas, produtos de degradação e componentes da matriz.

2.1.1. Para análise qualitativa (teste de identificação) é necessário demonstrar a capacidade de seleção do método entre compostos com estruturas relacionadas que podem estar presentes. Isto deve ser confirmado pela obtenção de resultados positivos (preferivelmente em relação ao material de referência conhecido) em amostras contendo o fármaco, comparativamente com resultados negativos obtidos com amostras que não contêm o fármaco, mas compostos estruturalmente semelhantes.

2.1.2. Para análise quantitativa (teor) e análise de impurezas, a especificidade pode ser determinada pela comparação dos resultados obtidos de amostras (fármaco ou medicamento) contaminadas com quantidades apropriadas de impurezas ou excipientes e amostras não contaminadas, para demonstrar que o resultado do teste não é afetado por esses materiais. Quando a impureza ou o padrão do produto de degradação não estiverem disponíveis, pode-se comparar os resultados do teste das amostras contendo impurezas ou produtos de degradação com os resultados de um segundo procedimento bem caracterizado (por exemplo metodologia farmacopéica ou outro procedimento validado). Estas comparações devem incluir amostras armazenadas sob condições de estresse (por ex. luz, calor umidade, hidrólise ácida/básica, oxidação).

RESOLUÇÃO-RE Nº 899, DE 29 DE MAIO DE 2003

O Adjunto da Diretoria Colegiada da Agência Nacional de Vigilância Sanitária, no uso da atribuição, que lhe confere a Portaria n.º 238, de 31 de março de 2003,

considerando o disposto no art.111, inciso II, alínea "a" § 3º do Regimento Interno aprovado pela Portaria n.º 593, de 25 de agosto de 2000, republicada no DOU de 22 de dezembro de 2000,

considerando que a matéria foi submetida à apreciação da Diretoria Colegiada, que a aprovou em reunião realizada em 6 de março de 2003, resolve:

Art. 1º Determinar a publicação do "Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos" anexo

Art. 2º Fica revogada a Resolução RE nº 475, de 19 de março de 2002.

Art. 3º Esta Resolução entra em vigor na data de sua publicação.

DAVI RUMEL

ANEXO

GUIA PARA VALIDAÇÃO DE MÉTODOS ANALÍTICOS E BIOANALÍTICOS

MÉTODOS ANALÍTICOS

1. Considerações gerais

1.1. As informações contidas nesse Anexo apresentam as características a serem consideradas durante a validação de procedimentos analíticos. O objetivo de uma validação é demonstrar que o método é apropriado para a finalidade pretendida, ou seja, a determinação qualitativa, semi-quantitativa e/ou quantitativa de fármacos e outras substâncias em produtos farmacêuticos.

1.2. Essas informações aplicam-se a:

1.2.1. técnicas analíticas que façam uso de métodos de cromatografia gasosa (CG) ou cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE);

1.2.2. métodos não-cromatográficos, desde que estes ofereçam uma seletividade aceitável (por ex. titulometria, espectrofotometria UV-VIS);

1.2.3. testes imunológicos ou microbiológicos, desde que observado o grau de variabilidade usualmente associado a estas técnicas.

1.3. A validação deve garantir, por meio de estudos experimentais, que o método atenda às exigências das aplicações analíticas, assegurando a confiabilidade dos resultados. Para tanto, deve apresentar especificidade, linearidade, intervalo, precisão, sensibilidade, limite de quantificação, exatidão, adequados à análise.

1.4. Deve-se utilizar substâncias de referência oficializadas pela Farmacopéia Brasileira ou, na ausência destas, por outros códigos autorizados pela legislação vigente. No caso da inexistência dessas substâncias, será admitido o uso de padrões de trabalho, desde que a identidade e o teor sejam devidamente comprovados.

1.5. Para efeito desse guia, considera-se corrida analítica as medições sucessivas de um mesmo analito, efetuadas nas mesmas condições: método, analista, instrumentação, local, condições de utilização e em intervalo de tempo curto entre as medições.

1.6. No caso de metodologia analítica descrita em farmacopéias ou formulários oficiais, devidamente reconhecidos pela ANVISA, a metodologia será considerada validada.

1.7. No caso de metodologia analítica não descrita em farmacopéias ou formulários oficiais, devidamente reconhecidos pela ANVISA, a metodologia será considerada validada, desde que sejam avaliados os parâmetros relacionados a seguir, conforme especificado nas Tabelas 1 e 2.

1.7.1. Especificidade e Seletividade

1.7.2. Linearidade

1.7.3. Intervalo

1.7.4. Precisão

1.7.5. Limite de detecção (sensibilidade)

1.7.6. Limite de quantificação

1.7.7. Exatidão

1.7.8. Robustez

1.8. No caso da transferência de metodologias da matriz para suas subsidiárias no Brasil e/ou das empresas nacionais para os centros de estudos de equivalência farmacêutica, a metodologia será considerada validada, desde que sejam avaliados os parâmetros de precisão, especificidade e linearidade. Cópia de toda a documentação original da validação da metodologia deverá ser anexada, como prova de que a metodologia foi originalmente validada e deverá conter, no mínimo, todos os parâmetros relacionados no item 1.7.

1.9. Para a garantia da qualidade analítica dos resultados, todos os equipamentos utilizados na validação devem estar devidamente calibrados e os analistas devem ser qualificados e adequadamente treinados.

2.1.3. Em métodos cromatográficos, deve-se tomar as precauções necessárias para garantir a pureza dos picos cromatográficos. A utilização de testes de pureza de pico (por exemplo, com auxílio de detector de arranjo de fotodiodos ou espectrometria de massas) são interessantes para demonstrar que o pico cromatográfico é atribuído a um só componente.

2.2. Linearidade

É a capacidade de uma metodologia analítica de demonstrar que os resultados obtidos são diretamente proporcionais à concentração do analito na amostra, dentro de um intervalo especificado.

2.2.1. Recomenda-se que a linearidade seja determinada pela análise de, no mínimo, 5 concentrações diferentes. Estas concentrações devem seguir os intervalos da Tabela 3.

2.2.2. Se houver relação linear aparente após exame visual do gráfico, os resultados dos testes deverão ser tratados por métodos estatísticos apropriados para determinação do coeficiente de correlação, intersecção com o eixo Y, coeficiente angular, soma residual dos quadrados mínimos da regressão linear e desvio padrão relativo. Se não houver relação linear, realizar transformação matemática.

2.2.3. O critério mínimo aceitável do coeficiente de correlação (r) deve ser = 0,99.

2.2.4. Deve-se apresentar as curvas obtidas (experimental e a resultante do tratamento matemático).

2.3. Intervalo

O intervalo especificado é a faixa entre os limites de quantificação superior e inferior de um método analítico. Normalmente é derivado do estudo de linearidade e depende da aplicação pretendida do método (Tabela 3). É estabelecido pela confirmação de que o método apresenta exatidão, precisão e linearidade adequados quando aplicados a amostras contendo quantidades de substâncias dentro do intervalo especificado.

Tabela 3. Limites percentuais do teor do analito que devem estar contidos no intervalo de linearidade para alguns métodos analíticos.

Ensaio	Alcance
Determinação quantitativa do analito em matérias-primas ou em formas farmacêuticas	De 80% a 120% da concentração teórica do teste
Determinação de impurezas	Do nível de impureza esperado até 120% do limite máximo especificado. Quando apresentarem importância toxicológica ou efeitos farmacológicos inesperados, os limites de quantificação e detecção devem ser adequados às quantidades de impurezas a serem controladas
Uniformidade de conteúdo	De 70% a 130% da concentração teórica do teste
Ensaio de dissolução	De ± 20% sobre o valor especificado para o intervalo. Caso a especificação para a dissolução envolva mais que um tempo, o alcance do método deve incluir -20% sobre o menor valor e +20% sobre o maior valor.