

Using a single tablet daily to treat latent tuberculosis infection in Brazil: bioequivalence of two different isoniazid formulations (300 mg and 100 mg) demonstrated by a sensitive and rapid high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry method in a randomised, crossover study

André Daher⁺, Luciana Pitta, Tereza Santos, Draurio Barreira, Douglas Pinto

Farmanguinhos, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ, Brasil

The recommended treatment for latent tuberculosis (TB) infection in adults is a daily dose of isoniazid (INH) 300 mg for six months. In Brazil, INH was formulated as 100 mg tablets. The treatment duration and the high pill burden compromised patient adherence to the treatment. The Brazilian National Programme for Tuberculosis requested a new 300 mg INH formulation. The aim of our study was to compare the bioavailability of the new INH 300 mg formulation and three 100 mg tablets of the reference formulation. We conducted a randomised, single dose, open label, two-phase crossover bioequivalence study in 28 healthy human volunteers. The 90% confidence interval for the INH maximum concentration of drug observed in plasma and area under the plasma concentration vs. time curve from time zero to the last measurable concentration "time t" was 89.61-115.92 and 94.82-119.44, respectively. The main limitation of our study was that neither adherence nor the safety profile of multiple doses was evaluated. To determine the level of INH in human plasma, we developed and validated a sensitive, simple and rapid high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry method. Our results showed that the new formulation was bioequivalent to the 100 mg reference product. This finding supports the use of a single 300 mg tablet daily strategy to treat latent TB. This new formulation may increase patients' adherence to the treatment and quality of life.

Key words: latent tuberculosis - isoniazid - bioavailability - bioequivalence - HPLC-MS/MS method

The greatest public health goal in tuberculosis (TB) control is stopping the transmission of Koch bacilli. The most efficient approach to stop transmission is treating infectious cases using an appropriate drug regimen. However, this approach does not benefit patients who have already been infected and present with latent TB infection. An important secondary objective towards eliminating TB is treating patients with latent infection who are at high risk of developing TB disease and becoming infectious. (IUATCP 1982, WHO 2012a) TB is a co-morbidity associated with human immunodeficiency virus (HIV) infection and the treatment of latent TB infection in HIV epidemic areas is essential (WHO 2012b).

In the 1950s, Horwitz et al. (1966) evaluated isoniazid (INH) as TB prophylaxis in a double blind, randomised, placebo controlled clinical trial in Greenland.

The results demonstrated a reduced incidence of active infection in the treated arm after six years of follow-up. However, they concluded that chemoprophylaxis recommendations should be restricted to selected population groups (Horwitz et al. 1966).

The results of subsequent clinical studies support that 300 mg INH treatment for one year is effective at preventing the progression of latent TB to active infection (Comstock 1962, Bush Jr et al. 1965, Del Castillo et al. 1965, Egsmose et al. 1965, Akolo et al. 2010). In 1982, the International Union Against Tuberculosis and Lung Diseases published a study comparing six, nine and 12 months of treatments with a five-year follow up of 28,000 patients (IUATCP 1982). This study supports the reduction of chemoprophylaxis to six months, especially given the improved adherence to the proposed six months of treatment. The Brazilian guidelines for the treatment of latent TB recommend 5-10 mg per kg weight with a 300 mg maximum dose for at least six months (PNCT 2011). Selected populations should be exposed to INH if there are risk factors for the progression to active TB disease. Thus, chemoprophylaxis is recommended in the following situations: immunodeficiency or under immunosuppressive treatment, age under two years and above 60 years and malnutrition. Chemoprophylaxis for patients with HIV infection is especially highlighted (PNCT 2011).

Reduced immunocompetence in acquired immune deficiency syndrome (AIDS) patients increases the risk of reactivation of a remote TB infection. A study conducted with Haitian subjects who were likely infected with TB during

doi: 10.1590/0074-02760140458

AD, LP and TS are employees of the Farmanguinhos (the study sponsor). Its team was involved in the study design, decision to publish and preparation of the paper. Farmanguinhos does not sell medicines on the market. Its production is exclusively driven to the Ministry of Health. This sponsorship does not alter our adherence policies on sharing data and materials. There were no restrictions on sharing data and/or materials.

+ Corresponding author: andredahe@gmail.com

Received 2 December 2014

Accepted 10 February 2015

childhood showed that AIDS was related to the progression to active TB in 60% of the cases (Pitchenik et al. 1984).

If left untreated, most HIV patients with a positive purified protein derivative test will progress to active disease. The therapeutic recommendation for this population is wider than the other groups because they have a higher risk of mortality and a higher risk of becoming infectious (MS/SVS/PN DST/aids 2008).

In Brazil, the governmental national control programmes supply highly active anti-retroviral therapy (HAART) and anti-TB drugs free of charge to the population. Until now, INH has only been available as 100 mg tablets in the country. The number of necessary tablets to complete the recommended six months of treatment may compromise patient adherence to the treatment (WHO 2003). This issue is even more serious in HIV patients on HAART because they already have a high pill burden. For these reasons, the Brazilian National Programme for Tuberculosis (PNCT) requested the development of a new 300 mg INH formulation. This new formulation provides an important pill burden reduction to Brazilian patients (from 540-180 tablets for the whole treatment). This reduction may have a considerable impact on patient adherence to INH.

We conducted this study to support the registration of the new product by the Brazilian regulatory agency. The aim of the study was to compare the bioavailability of the new INH 300 mg formulation manufactured by Institute of Drug Technology (Farmanguinhos)/Oswaldo Cruz Foundation (Fiocruz) and three 100 mg tablets of the reference formulation. As a secondary objective, we assessed the tolerability of a single dose of the formulations.

SUBJECTS, MATERIALS AND METHODS

Clinical protocol - The protocol for this trial is available as Supplementary data. The clinical study protocol and informed consent were reviewed and approved by the Ethical Committee at the University of Campinas (CAAE 3652.0.000.146-08). This committee is accredited by the Brazilian National Council on Ethics in Research of the Ministry of Health. The clinical study was conducted in accordance with the Helsinki Declaration revised in 2000, Good Clinical Practice (ICH 1996), Guidance on the Investigation of Bioavailability and Bioequivalence (CPMP/EWP/QWP/1401 1998) and Brazilian legislation (RES 196/96/MS/CNS 1996, RES 251/97/MS/CNS 1997, RES 1170/06/MS/CNS 2006). Written informed consent was obtained for every subject prior to enrolment. All of the subjects were informed about the nature of the trial, the possible risks and that they were free to withdraw their consent of participation at any time. The investigators and study staff observed the confidentiality of the records. The clinical part of the study was conducted at the Synchronophar clinical unit at Irmãos Penteados Hospital, Campinas, state of São Paulo, Brazil, which is accredited by the Brazilian Health Surveillance Agency (ANVISA).

The trial was designed as a single centre, randomised, single dose, open label, fasting, two-phase crossover bioequivalence study with an washout period of seven days (> 7 half-life). The trial was registered at the Brazilian National Information System of Pharmaceutical Equiva-

lence and Bioequivalence studies (SINEB) (registry CEF 03/08) and in the clinicaltrials.gov database (registry NCT02043314). The authors confirm that all of the ongoing and related trials for this intervention are registered.

The inclusion criteria were predefined as follows: healthy men and women, aged between 18-50 years and body-mass-index (BMI) between 18.5-29.9 kg/m². The exclusion criteria included known hypersensitivity to INH, pregnancy, use of other drugs other than contraceptives, health problems, alcohol or drug abuse and any other condition that could alter absorption, distribution, metabolism and excretion of INH.

Study procedures - The study participants were recruited and enrolled from the study volunteers' pool at Synchronophar. All of the volunteers met the inclusion and the exclusion criteria defined in the study protocol. Healthy volunteers were considered to be eligible for the study based on medical history, demographic data, medication history, physical examination and clinical laboratory tests [haematology, biochemistry, urinalysis, HIV and hepatitis B and C, parasitological faeces test, β -HCG (female subjects before each administration of study drugs and post study) and a 12-lead electrocardiogram].

The volunteers were recruited and included in the study on the 21 October 2008, the second phase was conducted after the washout period of seven days and the follow-up adverse event (AE) evaluation was conducted 10 days after the last blood collection. The Labsefar statistician performed the randomisation. Each subject was assigned to one of two study treatment sequences (RT or TR). The trial was open label and thus no blinding was needed. After 10 h of fasting overnight, each subject received either the test formulation (INH 300 mg manufactured by Farmanguinhos - batch 06102382) or three tablets of the reference formulation (INH 100 mg manufactured by Aeronautics Chemical and Pharmaceutical Laboratory - batch 07090034). The study drugs were administered with 200 mL of mineral water. Mouth checks were performed following drug administration to ensure ingestion of each dose. Subjects continued to fast until after 4 h after the administration and controlled meals were served afterwards. Fluid intake was allowed *ad libitum* until 6 h before dosing and 2 h after dosing.

Serial blood samples for the pharmacokinetic assessments were collected over a period that was greater than three half-lives at the following time points: 0 (pre-dose 30 min before dosing), 0:20, 0:40, 1, 1:20, 1:40, 2, 2:30, 3, 3:30, 4, 5, 6, 8, 12 and 24 h after oral administration of each treatment. Blood samples (7.5 mL each) were drawn into heparinised tubes for further processing. Immediately after blood collection, the tube was inverted by hand to ensure thorough mixing with the anticoagulant and centrifuged for 10 min at 3,000 rpm (+4°C). After centrifugation, the plasma samples were immediately transferred to separate appropriately labelled plastic cryotubes and stored at -25°C until analysis.

AEs were assessed either by periodic physical examination or by clinical laboratory tests at baseline and at the end of the study. Registration of AEs included duration, severity, intensity and causality relationship with the drug as well as the outcome. Neither serious deviation nor violation of the study protocol occurred.

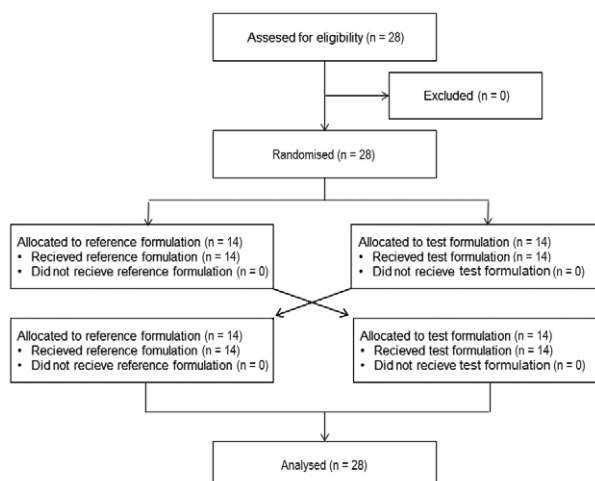


Fig. 1: study flow diagram.

Fig. 1 shows the flow diagram of participants throughout the trial.

Drug analysis - The analytical part of the study was performed from 11 December 2008-14 January 2009. The statistical analysis was performed from 11 December 2008-16 March 2009. The study was finalised in March 2009.

Chemicals and reagents - The INH reference standard and fluconazole (FLC) [internal standard (IS)] were identified and supplied by the United States Pharmacopoeia (USA). Methanol, acetonitrile and isopropanol were of chromatographically pure grade and the formic acid was of analytical grade. All of the chemicals were purchased from Tédia Company (USA). Ultra purified water (type I) was separated and used for preparing the solutions and the mobile phase study.

Instrumentation and operating conditions - Liquid chromatography was performed using a Varian System (USA) equipped with two Varian 212-LC pumps. A CTC Analytics HTS auto-injector was used. Chromatographic separation was conducted using an Inertsil Sil 100A (5 μ m, 50 x 2.1 mm I.D.) column at an ambient temperature. The mobile phase consisted of a mixture of the following two solutions: (i) water containing formic acid 0,046% and (ii) isopropanol-acetonitrile. The composition of the mobile phase was 20A/80B v/v and was set at a flow rate of 0.3 mL/min.

The mass spectrometric detection was performed using a Varian 310-MS quadrupole LC-MS/MS system (USA) equipped with an electrospray ion source and operated in the positive ionisation mode. The ion spray voltage and source temperature were 3,000 V and 400°C, respectively. The parameters for the other gas source were set, as follows: drying gas 20 psi, nebulizer gas 55 psi and collision induced dissociation 2.00 mTorr. Quantification was performed using multiple reaction monitoring of the fragmentation transitions m/z 138.50→121.30 for INH and m/z 307.30→238.00 for FLC (IS) (Figs 2, 3). Data acquisition and analysis were achieved using the Varian MS Workstation software v.6.6 (USA).

Preparation of stock and work solutions - The stock solution of INH was prepared at a concentration of 1.0 mg/mL in ultrapure water. Stock solutions of FLC (IS) were prepared only in methanol/water - 50/50 - v/v at a concentration of 1.0 mg/mL. All of the solutions were stored at -25°C.

The standard working solutions of INH analytes were prepared in 200, 400, 1,000, 2,000, 4,000, 10,000 and 15,000 ng/mL concentrations. They were obtained by serial dilution of the stock solution with ultrapure water. Quality control (QC) working solutions of INH in 200, 400, 4,000 and 10,000 ng/mL concentrations were similarly prepared as the standard working solution. The working IS solution containing 1,000 ng/mL of FLC was prepared in methanol/water - 50/50 - v/v by diluting the stock solutions. When not in use, all of the solutions were stored at -25°C in an amber glass bottle.

Sample preparation - QCs, calibration curve and clinical plasma samples were extracted using a precipitation extraction technique. A 0.10 mL aliquot of the collected plasma sample from healthy volunteers, QCs or calibration curve was pipetted into a 2 mL polypropylene tube. The working solution of the IS (1,000 ng/mL) and 0.4 mL of acetonitrile were added and then vortexed for 1 min. Then, the samples were centrifuged at 14,400 rpm for 5 min at +4°C. The organic layer was transferred to another 2 mL polypropylene tube, 0.1 mL ultrapure water and formic acid 0.046% were added and the mixture was vortexed for 30 s. An aliquot of 0.3 mL was transferred to vial glasses and 10 μ L was injected into the LC-MS/MS system.

Method validation - The validation process was conducted according to guidance (Bioanalytical Method Validation) provided by the US Food Drug Administration (FDA 2001). This guidance is in accordance with resolution 899 of 23 May 2003 by the ANVISA (ANVISA 2003b).

Selectivity was assessed by comparing chromatograms of six different batches of blank human plasma with the corresponding spiked human plasma. In this test, no significant interference was detected in the retention times of the analyte and the IS. Intra and inter-day precision [the relative standard deviation (RSD)] and accuracy (the relative error) were determined by analysing low, medium and high QC samples (n = 8) on three different days. The extraction recovery was determined by comparing the mean peak areas of eight extracted samples at low, medium and high QC concentrations with the mean peak areas of Spike after the extraction samples.

Stability was assessed by analysing the replicates (n = 8) of the low and high QC samples during sample storage and processing procedures. The freeze-thaw stability was determined after four freeze-thaw cycles. Post-preparation stability was estimated by analysing QC samples at 24 h at +4°C. Six aliquots of QC samples were stored at -20°C for 63 days and at ambient temperature for 6 h to determine long-term and short-term stability, respectively.

Pharmacokinetics analysis - Pharmacokinetic analysis was performed with the data from subjects who completed both periods of the study using the WinNonlin® software v.5.01 (Pharsight Co, USA). Concentration val-

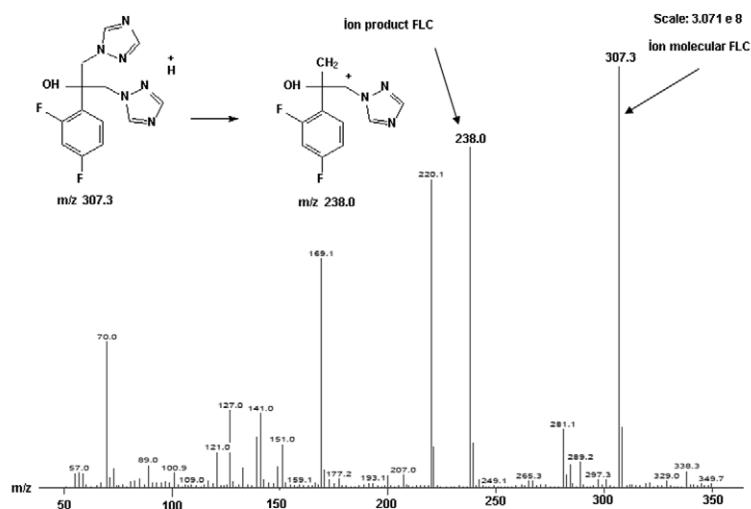


Fig. 2: mass spectrum and fragmentation route of fluconazole (FLC) - internal standard.

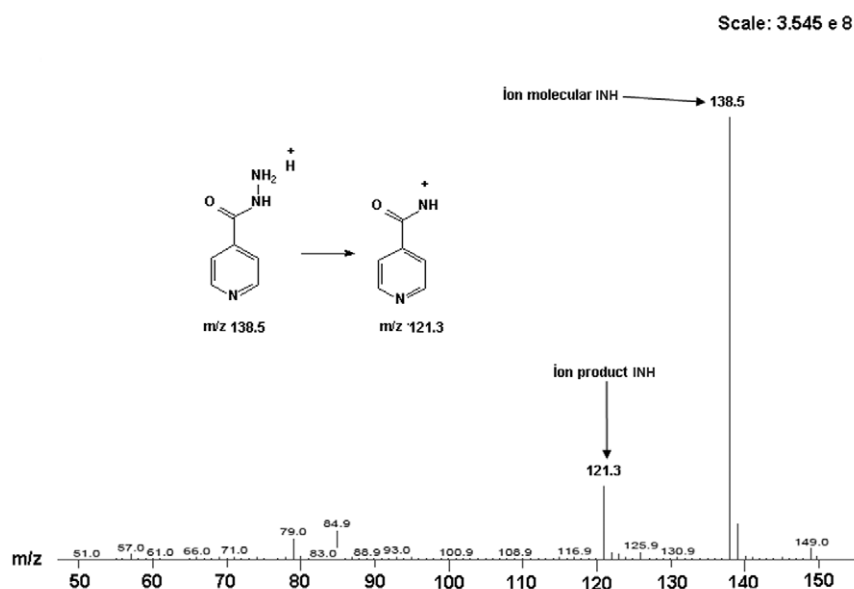


Fig. 3: mass spectrum and fragmentation route of isoniazid (INH).

ues below the quantification limit (100 ng/mL) at the initial absorption or at the terminal elimination phase were considered to be zero. Missing values were not included in the pharmacokinetic evaluation calculation.

The following pharmacokinetic parameters were estimated: maximum concentration of drug observed in plasma (C_{max}), area under the plasma concentration vs. time curve from time zero to the last measurable concentration "time t" (AUC_{0-t}) calculated using a linear trapezoidal method, area under the plasma concentration vs. time curve from time zero to time infinity (AUC_{0-inf}) calculated as where cycle threshold is the last concentration of the drug, the time required to reach maximum concentration of drug in plasma (T_{max}), elimination rate

constant, λ_z and the time it took the plasma concentration to reduce to 50% during the elimination phase. A noncompartmental method was used to estimate the pharmacokinetic parameters.

The pharmacokinetic parameters were calculated from the plasma concentrations using a noncompartmental method for INH. The area under the curve was obtained by the linear trapezoidal method. The C_{max} and the T_{max} were obtained by directly reading the concentration results.

Statistical analysis - Summary statistics were calculated for the concentration-time data of the test and reference products for all of the pharmacokinetic parameters, including the arithmetic mean [mean, SD, coefficient of variation (CV), minimum (min), maximum (max) and median].

TABLE I
Mean pharmacokinetic parameters of
isoniazid for the test formulation

	Test				
	C_{\max}	AUC_{0-T}	AUC_{inf}	$T_{1/2}$	T_{\max}
Mean	4.619.77	12.425.53	13.375.63	2.54	0.75
SD	2.151.52	6.177.13	6.788.75	1.01	0.42
CV	0.47	0.50	0.51	0.40	0.56
Minimum	1.632.74	3.554.16	3.734.03	1.03	0.33
Maximum	10.820.88	26.327.94	27.856.54	4.26	2.00

AUC_{0-t} : time zero to the last measurable concentration "time t"; AUC_{inf} : area under the plasma concentration vs. time curve from zero to infinity; C_{\max} : maximum concentration of drug observed in plasma; CV: coefficient of variation; SD: standard deviation; $T_{1/2}$: time it took the plasma concentration to reduce to 50% during the elimination phase; T_{\max} : time required to reach maximum concentration of drug in plasma.

TABLE II
Mean pharmacokinetic parameters of
isoniazid for the reference formulation

	Reference				
	C_{\max}	AUC_{0-T}	AUC_{inf}	$T_{1/2}$	T_{\max}
Mean	4.366.87	12.522.24	13.504.98	2.57	0.92
SD	1.475.09	6.057.47	6.703.68	1.01	0.62
CV	0.34	0.48	0.50	0.39	0.68
Minimum	1.482.00	2.946.62	3.204.84	1.05	0.33
Maximum	7.355.17	24.536.56	27.024.08	4.16	3.50

AUC_{0-t} : time zero to the last measurable concentration "time t"; AUC_{inf} : area under the plasma concentration vs. time curve from zero to infinity; C_{\max} : maximum concentration of drug observed in plasma; CV: coefficient of variation; SD: standard deviation; $T_{1/2}$: time it took the plasma concentration to reduce to 50% during the elimination phase; T_{\max} : time required to reach maximum concentration of drug in plasma.

The bioequivalence acceptance interval was set at 80-125% as required by the regulatory agency (ANVISA 2003b). The 90% confidence interval (CI) of the test/reference mean ratio of INH was computed for the log-transformed pharmacokinetic parameters of C_{\max} , AUC_{0-t} and $AUC_{0-\text{inf}}$. The ANOVA model included the following factors: sequence, subject with sequence, period and treatment.

Tables I, II show the pharmacokinetic parameters of the test product and the reference, respectively.

RESULTS

Drug analysis - INH is a hydrophilic compound that is easily eluted from a normal reversed phase C18 column. Therefore, to chromatographically resolve these compounds,

we used a highly mobile phase and an Inertsil Sil 100A (5 μm , 50 x 2.1 mm I.D.) column that provided appropriate retention and selectivity for polar compounds.

The best analysis conditions were achieved using a mixture of solutions, including (i) water containing formic acid 0.046% and (ii) isopropanol-acetonitrile. This mixture provided a good chromatographic peak shape of the analyte and the IS as well as their elution in a short period of analysis when compared with literature (Panchagnula et al. 2003, Wang et al. 2007). The extraction method by precipitation with acetonitrile was adequate for the study. However, the analyst chose to perform a procedure of division in the acquisition of masses at the beginning of the analysis up to 0.5 min to eliminate potential contaminants that could suppress the signal when in contact with the ion source (Fig. 4). The linearity of the method set from the LLQ of 100 ng/mL to the upper limit of 7,500 ng/mL (Table III) was sufficient to define the pharmacokinetic parameters of the study. The linearity limits of the bioanalytical method were defined based on published data of the bioavailability of INH.

Table III describes the calibration curve of INH with precision and accuracy according to regulatory agency requirements [20% accuracy for the lower limit of quantification (LLQ) (100 ng/mL) and 15% for the other concentration values] (ANVISA 2003b). The LLQ of 100 ng/mL was established as a function of signal to noise ratio greater than 10 and quantifiable analytical signal with acceptable precision and accuracy.

Intra-day, inter-day precisions and accuracies were within the pre-defined acceptance limits (Table IV). The precision and accuracy were according to the acceptable criteria recommended by the ANVISA. The precision at each concentration level did not exceed a CV of 15% and its accuracy was within the range established (i.e., 85-115%) for each concentration level tested. The mean extraction recoveries of INH (n = 8) were 80.35%, 88.59%, 94.58% at concentrations of 200, 2,000 and 5,000 ng/mL, respectively (Table IV).

The plasma stability tests were reproduced under the conditions of analysis in which the subject samples were studied. The results presented in Table V were obtained comparing freshly prepared samples with those undergoing short-term stability tests (6 h, room temperature), post-preparative stability (48 h, +7°C), freeze-thaw stability (4 cycles - 96 h, -20°C) and long-term stability (63 days, -20°C).

Bioequivalence analysis - Twenty-eight healthy subjects of both genders between 21-50 years of age (μ 33 and SD 8.42), weight 54.3-84 kg (μ 65.88 and SD 8.29) and BMI \geq 19.79 kg/m² and \leq 28.04 kg/m² (μ 24.09 and SD 2.08) were enrolled and dosed in the study. All of the subjects completed both periods of the study.

The mean plasma concentration-time profile for the test and reference product of INH is shown in Fig. 5. The mean pharmacokinetic parameters of INH are provided in Tables I, II for the test and reference product, respectively.

The average bioequivalence was evaluated based on the 90% CI for the intra-individual mean ratio of log-

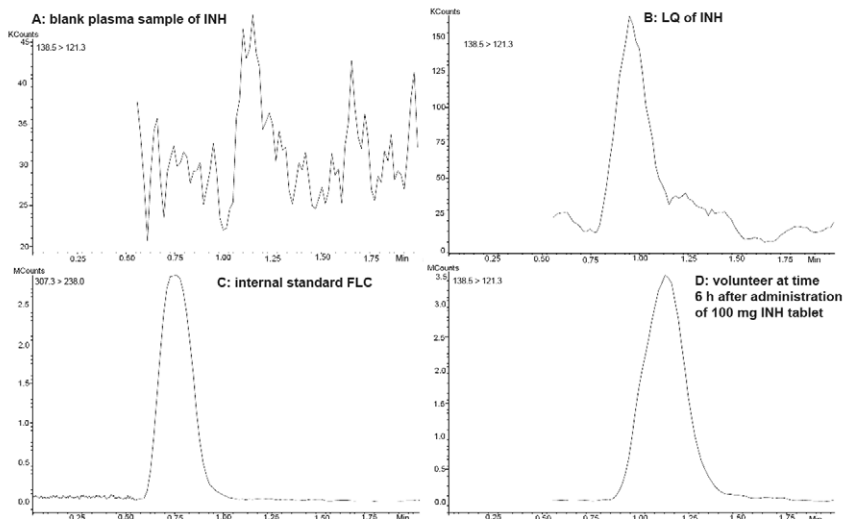


Fig. 4: high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. FLC: fluconazole; INH: isoniazid; LQ: limit of quantification.

TABLE III

Precision and accuracy data of back calculated concentrations of calibration samples for isoniazid (INH) in plasma^a

Analyte	Nominal concentration (ng/mL)	Observed concentration (ng/mL - mean ± SD)	Precision (RSD) (%)	Accuracy (%)
INH	100	97.28 ± 3.32	3.41	97.28
	200	208.10 ± 15.31	7.36	104.05
	500	503.12 ± 43.11	8.57	100.62
	1,000	1,071.81 ± 10.44	0.97	107.18
	2,000	1,967.41 ± 18.50	0.94	98.37
	5,000	4,994.55 ± 179.65	3.60	99.89
	7,500	6,934.19 ± 488.77	7.05	92.46

^a: two replicates per batch; RSD: relative standard deviation; SD: standard deviation.

transformed C_{max} and AUC_{0-t} of the test and reference formulation. The 90% CI interval was planned in the protocol and was recommended by the regulatory agencies (ANVISA 2003a, FDA 2006). The 90% CI for the INH log transformed C_{max} and AUC_{0-t} was 89.61, 115.92 and 94.82-119.44, respectively. Hence, all of the pharmacokinetic parameters were within the accepted bioequivalence range 80-125% for C_{max} and AUC_{0-t} of INH.

Tolerability analysis - Fourteen volunteers (50%) presented with 25 AEs. The most frequent AEs were anaemia or low haemoglobin levels (9 cases) and headache (8 cases). These events might be related to study procedures as the sample collection. The distribution of AEs was similar between the reference and test groups, as follows: 12 AEs were reported after the administration of the reference formulation and 13 were reported after the test dosing formulation. Symptomatic treatment was prescribed in nine cases. Causality was defined as probable in 14 cases, possible in six cases and unrelated in five cases. No serious AEs were reported during the study.

DISCUSSION

This manuscript addresses a new treatment approach for latent TB that is highly relevant for clinical practice in Brazil. Because there have been no radical innovations for TB treatment for a long time, incremental innovations are important to increase patients' quality of life. Public health policies that reduce pill burden have been recommended to simplify treatments (Blomberg et al. 2001) increase compliance and even prevent the emergence of resistance (Mitchison 1998). A well-known approach is the use of fixed dose combinations (Blomberg et al. 2001). Because the new formulation will reduce pill burden compared to the old formulation, it is expected to improve care by simplifying treatment.

The main limitation of our study is that neither adherence nor multiple doses safety profile was evaluated. However, an increased risk of AEs is not expected because the daily and total dose of treatment remains the same. The bioavailability results confirm that exposure to the drug using the old formulation and the new formulation is equivalent.

For this bioequivalence study, a sensitive, simple and rapid high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry method to determine INH levels in human plasma was developed and validated. The described method showed good specificity, precision, accuracy and linearity over the range of 100-7,500 mg/mL for INH. This method provided a simple sample preparation using protein precipitation with acetonitrile. The established LLQ of 100 ng/mL for INH was adequate to determine concentrations in human plasma during the pharmacokinetic study. No significant interferences caused by endogenous compounds were observed.

The stability tests demonstrated that the INH analyte showed no signs of degradation when present in the biological matrix under plasma conditions of storage and

analysis in short and long term. The developed method using tandem mass spectrometry demonstrated the advantage of a short run time and high selectivity for application to high throughput analysis. Contrary to usual practice, this analytical method is thoroughly reported in this paper. Researchers will benefit from this simple method, which can be used to explore the pharmacokinetic aspects of INH in future research studies, clinical practice and therapeutic drug monitoring.

By applying this method, the new formulation of INH 300 mg has been shown to be bioequivalent to three tablets of the 100 mg reference product. This new product in Brazil may increase adherence to treatment for latent TB. In 2013, the PNCT made the standard dose formulation recommended worldwide available to Brazilians. While the new formulation is made available in the country, the medical community needs to be aware of the new treatment strategy adopted by the PNCT, namely a single tablet of 300 mg INH daily for six months. Increasing medical awareness is important to avoid medication errors when prescribing INH because the wrong use of the new formulation could lead to a higher frequency of AEs. Further pharmacovigilance studies may explore the misuse of INH formulations.

This bioequivalence study reports important data on the pharmacokinetics of INH to consider including INH as a Class I drug in the Biopharmaceutical Classification System (BCS). The BCS may avoid unnecessary exposure of healthy human volunteers to clinical trials. The BCS may also lower the costs of developing generic products and improve the population's access to these products. INH has been regarded as a product that can be considered as a biowaiver, i.e., a product can be approved in a regulatory agency based on in vitro dissolution tests rather than requiring bioequivalence studies in human subjects (Lindenberg et al. 2004). However, regulatory

TABLE IV

Precision, accuracy and recovery data for isoniazid (INH) quantification by high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

Validation parameters	INH quality control concentration (ng/mL)			
	100	200	2,000	5,000
Precision (RSD) (%)				
Intra-run (n = 8)	8.15	11.68	7.63	5.78
Inter-run (n = 24)	10.22	7.20	5.75	8.65
Accuracy (%)				
Intra-run (n = 8)	102.06	102.13	99.00	95.20
Inter-run (n = 24)	99.15	104.49	105.99	101.81
Recovery (%) (n = 8)	-	80.35	88.59	94.58

RSD: relative standard deviation.

TABLE V

Stability of human plasma samples of isoniazid under various storage conditions (n = 8)

Stability	Measured concentration (ng/mL ⁻¹)	Fresh samples ^a (ng/mL ⁻¹)	RSD (%)	Stability samples ^a (ng/mL ⁻¹)	RSD (%)	Assay values (%)
Post-preparative stability (48 h, +7°C)	200	190.36	8.13	200.77 ^b	10.04	-5.47
	5,000	4.772.49	6.66	4.941.09 ^b	3.66	3.53
Long-term stability (63 days, -20°C)	200	199.42	11.13	191.09 ^c	8.57	-4.18
	5,000	4.807.86	3.77	4.556.39 ^c	2.66	-5.23
Freeze-thaw stability (4 cycles/96 h, -20°C)	200	196.60	4.68	204.92 ^d	5.53	4.23
	5,000	4.670.17	5.02	4.766.18 ^d	3.14	3.53
Short-term stability (6 h, room temperature)	200	199.20	4.11	198.76 ^e	4.17	-0.22
	5,000	4.913.08	4.09	5.198.38 ^e	2.70	5.81

a: mean of eight replicates; b: after 48 h; c: after 1,512 h; d: after 96 h; e: after 6 h; RSD: relative standard deviation.

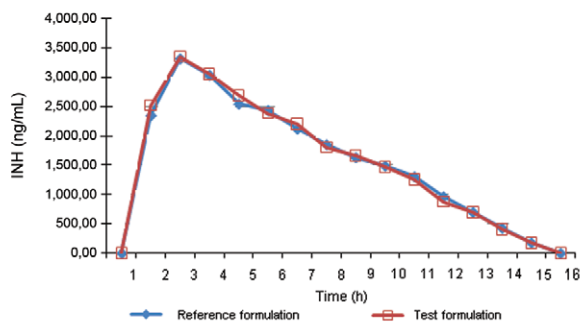


Fig. 5: mean plasma concentration-time profile for test and reference product of isoniazid (INH).

agencies have been refusing this approach because standard permeability tests have not been defined. The historic series of bioequivalence studies have been the actual gold standard to define the permeability of a product. In 2011, the Brazilian regulatory agency published a list of bio waivers that included INH (ANVISA 2011). This study may provide additional support for this decision that can lower the costs of future INH formulation developments. These results could also support the acceptance of INH as a bio waiver by regulatory agencies worldwide.

This bioavailability study demonstrates that the new formulation of INH 300 mg and three 100 mg tablets of the reference formulation are interchangeable. The study led to the registration of the new product by the Brazilian regulatory agency. By increasing patient adherence to the treatment, it is expected that the new formulation will improve patient care for latent TB.

The analytical method reported provides a sensitive, simple and rapid way of measuring INH in human plasma that will help future research on INH worldwide.

ACKNOWLEDGEMENTS

To all the volunteers that participated in this study.

REFERENCES

- Akolo C, Adetifa I, Shepperd S, Volmink J 2010. Treatment of latent tuberculosis infection in HIV infected persons. *Cochrane Database Syst Rev* 1: CD000171.
- ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária 2003a. Resolução 898. Guia para planejamento e realização da etapa estatística de estudos de biodisponibilidade relativa/bioequivalência. Available from: anvisa.gov.br/medicamentos/bioequivalencia/legis.htm.
- ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária 2003b. Resolução 899. Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos. Available from: anvisa.gov.br/medicamentos/bioequivalencia/legis.htm.
- ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária 2011. Instrução Normativa 4. Available from: bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2011/int0004_03_08_2011.html.
- Blomberg B, Spinaci S, Fourie B, Laing R 2001. The rationale for recommending fixed-dose combination tablets for treatment of tuberculosis. *Bull World Health Organ* 79: 61-68.
- Bush Jr OB, Sugimoto M, Fujii Y, Brown Jr FA 1965. Isoniazid prophylaxis in contacts of persons with known tuberculosis. Second report. *Am Rev Respir Dis* 92: 732-740.
- Comstock GW 1962. Isoniazid prophylaxis in an undeveloped area. *Am Rev Respir Dis* 86: 810-822.
- Del Castillo H, Bautista LD, Jacinto CP, Lorenzo CE, Lapuz S, Legaspi B 1965. Chemoprophylaxis in the Philippines: a controlled pilot study among household contacts of tuberculosis cases. *Bull Quezon Institute* 7: 277-290.
- Egsmose T, Ang'awa JO, Poti SJ 1965. The use of isoniazid among household contacts of open cases of pulmonary tuberculosis. *Bull World Health Organ* 33: 419-433.
- FDA - Food and Drug Administration 2001. Guidance for industry: bioanalytical method validation. Available from: fda.gov/downloads/Drugs/Guidances/ucm070107.pdf.
- FDA - Food and Drug Administration 2006. Guidance for industry: bioequivalence guidance. Available from: fda.gov/downloads/AnimalVeterinary/GuidanceComplianceEnforcement/GuidanceforIndustry/ucm052363.pdf.
- Horwitz O, Payne PG, Wilbek E 1966. Epidemiological basis of tuberculosis eradication. 4. The isoniazid trial in Greenland. *Bull World Health Organ* 35: 509-526.
- IUATCP - International Union Against Tuberculosis Committee on Prophylaxis 1982. Efficacy of various durations of isoniazid preventive therapy for tuberculosis: five years of follow-up in the IUAT trial. *Bull World Health Organ* 60: 555-564.
- Lindenberg M, Kopp S, Dressman JB 2004. Classification of orally administered drugs on the World Health Organization Model List of Essential Medicines according to the biopharmaceutics classification system. *Eur J Pharm Biopharm* 58: 265-278.
- Mitchison DA 1998. How drug resistance emerges as a result of poor compliance during short course chemotherapy for tuberculosis. *Int J Tuberc Lung Dis* 2: 10-15.
- MS/SVS/PN DST/aids - Ministério da Saúde/Secretaria de Vigilância em Saúde/Programa Nacional de DST e Aids 2008. *Recomendações para terapia anti-retroviral em adultos infectados pelo HIV: 2008*, MS, Brasília, 244 pp.
- Panchagnula R, Sancheti P, Rungta S, Agrawal S, Kaul CL 2003. Evaluation of bioequivalence of isoniazid and pyrazinamide in three and four drugs fixed dose combinations using WHO simplified protocol. *Pharmacol Res* 48: 383-387.
- Pitchenik AE, Cole C, Russell BW, Fischl MA, Spira TJ, Snider Jr DE 1984. Tuberculosis, atypical mycobacteriosis and the acquired immunodeficiency syndrome among Haitian and non-Haitian patients in south Florida. *Ann Intern Med* 101: 641-645.
- PNCT - Programa Nacional de Controle da Tuberculose 2011. *Manual de recomendações para o controle da tuberculose no Brasil*, Ministério da Saúde/Secretaria de Vigilância em Saúde/Departamento de Vigilância Epidemiológica, Brasília, 284 pp.
- Wang A, Zhang W, Sun J, Liu J, Sang Y, Gao S, He Z 2007. HPLC-MS analysis of isoniazid in dog plasma. *Chromatographia* 66: 741-745.
- WHO - World Health Organization 2003. Adherence to long-term therapies: evidence for action. Available from: whqlibdoc.who.int/publications/2003/9241545992.pdf.
- WHO - World Health Organization 2012a. Global tuberculosis report. Available from: apps.who.int/iris/bitstream/10665/75938/1/9789241564502_eng.pdf.
- WHO - World Health Organization 2012b. WHO policy on collaborative TB/HIV activities: guidelines for national programmes and other stakeholders. Available from: apps.who.int/iris/bitstream/10665/44789/1/9789241503006_eng.pdf?ua=1&ua=1.



Synchrophar

PROTOCOLO DE ESTUDO DE BIOEQUIVALÊNCIA

Substância: Isoniazida
Código Synchrophar: 029/08
Código do SEFAR: 03.ISZ/18-08BE.02
Versão: Final
Data: 30/09/2008

Título: "Estudo clínico de farmacocinética de duas formulações de Isoniazida em voluntários sadios de ambos os sexos: Isoniazida comprimido de 300mg (teste) produzido pelo Instituto de Tecnologia e Fármacos – Farmanguinhos e Isoniazida-LAQFA[®] 03 comprimidos de 100 mg (Referência) produzido pela Laboratório Químico Farmacêutico da Aeronáutica."

Investigador Principal: Dr. Eduardo Werneck Barroso CRM: 5241807-7

Responsável pela Etapa Clínica: Ney Carter do Carmo Borges, M.D., Ph.D., FACC, FACP
CRM: 50.535/SP e Ronilson Agnaldo Moreno B.Sc.,
M.Sc., Ph.D

Responsável etapa analítica: Dr^a. Marlice Aparecida Sípoli Marques CRF: 5735

Responsáveis etapa estatística MsC. Luciana da Rocha Pitta

Synchrophar - Assessoria e Desenvolvimento de Projetos Clínicos S/S Ltda
R: Engenheiro Cândido Gomide, 38 – Botafogo - CEP: 13.073-200 - Campinas-SP

CENTROS DE PESQUISA	PATROCINADOR
<p>Synchrophar - Assessoria e Desenvolvimento de Projetos Clínicos S/S Ltda Rua Engenheiro Cândido Gomide, 38 – Botafogo - 13.073-200 Campinas - SP</p>	<p>Instituto de Tecnologia em Fármacos - Farmanguinhos Av. Comandante Guaranys, 447 Jacarepaguá - 22775 610 Rio de Janeiro RJ</p>
<p>Serviço de Farmacocinética Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas - SEFAR Fundação Oswaldo Cruz Avenida Brasil, 4365 – Manguinhos. CEP: 21040-360 Rio de Janeiro RJ</p>	

INVESTIGADOR PRINCIPAL	RESPONSÁVEIS PELA ETAPA CLÍNICA
<p>Dr. Eduardo Werneck Barroso CRM 5241807-7</p>	<p>Ney Carter do Carmo Borges M.D., Ph.D., FACC, FACP - CRM: 50.535</p> <p>Ronilson Agnaldo Moreno B.Sc., M.Sc., Ph.D</p>

TERMO DE COMPROMISSO

Dr. Eduardo Werneck Barroso, Pesquisador, RG: 04496018-5, CPF: 745339757-04, Investigador Responsável do Protocolo de Pesquisa Intitulado: "Estudo clínico de farmacocinética de duas formulações de Isoniazida em voluntários sadios de ambos os sexos: Isoniazida – comprimido de 300 mg - Teste - produzido pelo Instituto de Tecnologia em Fármacos - Farmanguinhos e Isoniazida-IAQFA[®] - 03 comprimidos de 100 mg - Referência- produzido pelo Laboratório Laboratório Químico Farmacêutico da Aeronáutica" compromete-se a desenvolver a pesquisa supracitada conforme as diretrizes e normas de pesquisa envolvendo seres humanos das Resoluções nº 196/96 e 251/97 do Conselho Nacional de Saúde - Ministério da Saúde, das Boas Práticas Clínicas segundo o ICH e de acordo com a Declaração de Helsinki (1965) e as revisões de Tóquio (1975), Veneza (1983) e África do Sul (1996) e Escócia (2000). Compromete-se ainda a só utilizar os dados e os materiais biológicos obtidos para a realização das avaliações e relatórios referentes a esta pesquisa clínica.

Rio de Janeiro, 30 de Setembro de 2008.




Dr. Eduardo Werneck Barroso
Investigador Responsável

TERMO DE COMPROMISSO

O Instituto de Tecnologia em Fármacos - Farmanguinhos compromete-se a assumir responsabilidade, provendo suporte e compensação nos casos em que a saúde dos voluntários seja agravada em decorrência da participação dos mesmos no estudo: "Estudo clínico de farmacocinética de duas formulações de Isoniazida em voluntários sadios de ambos os sexos: Isoniazida - comprimido de 300 mg - Teste - produzido pelo Instituto de Tecnologia em Fármacos - Farmanguinhos e Isoniazida-LAQFA® - 03 comprimidos de 100 mg - Referência - produzido pelo Laboratório Químico Farmacêutico da Aeronáutica" desde que este estudo tenha sido realizado em conformidade com as Boas Práticas Clínicas. A obrigação de indenizar não se estenderá às hipóteses resultantes de negligência ou conduta inadequada intencional da CONTRATADA e/ou Investigador Principal ou de seus funcionários, agentes, sub-contratados ou filiados.

Rio de Janeiro, 30 de Setembro de 2008.

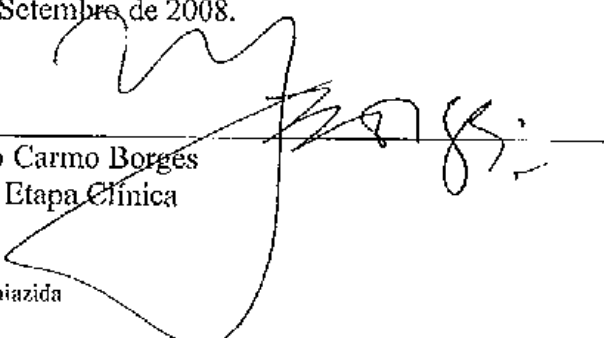


Dr. André Bastos Daher
Monitor - Farmanguinhos

TERMO DE COMPROMISSO

Dr. Ney Carter do Carmo Borges, RG:1210753, CPF: 109.411.772-20, responsável pela Etapa Clínica do Protocolo de Pesquisa Intitulado: "Estudo clínico de farmacocinética de duas formulações de Isoniazida em voluntários sadios de ambos os sexos: Isoniazida – comprimido de 300 mg - Teste - produzido pelo Instituto de Tecnologia em Fármacos - Farmanguinhos e Isoniazida-LAQFA® - 03 comprimidos de 100 mg – Referência- produzido pelo Laboratório Químico Farmacêutico da Aeronáutica" compromete-se a desenvolver a pesquisa supracitada conforme as diretrizes e normas de pesquisa envolvendo seres humanos das Resoluções nº 196/96 e 251/97 do Conselho Nacional de Saúde - Ministério da Saúde, das Boas Práticas Clínicas segundo o ICH e de acordo com a Declaração de Helsinki (1965) e as revisões de Tóquio (1975), Veneza (1983) e África do Sul (1996) e Escócia (2000). Compromete-se ainda a só utilizar os dados e os materiais biológicos obtidos para a realização das avaliações e relatórios referentes a esta pesquisa clínica.

Campinas, 30 de Setembro de 2008.



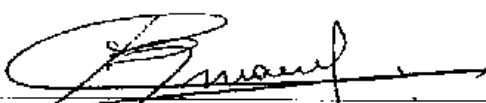
Dr. Ney Carter do Carmo Borges
Responsável pela Etapa Clínica

Estudo: SPH29/08_Isoniazida
Documento: Protocolo
Versão: Final
Data: 30 de Setembro de 2008

TERMO DE COMPROMISSO

Dr. Ronilson Agnaldo Moreno, RG: 132909145, CPF: 066.286.478-62, responsável pela Etapa Clínica do Protocolo de Pesquisa Intitulado: "Estudo clínico de farmacocinética de duas formulações de Isoniazida em voluntários sadios de ambos os sexos: Isoniazida – comprimido de 300 mg - Teste - produzido pelo Instituto de Tecnologia em Fármacos - Farmanguinhos e Isoniazida-LAQFA[®] - 03 comprimidos de 100 mg – Referência- produzido pelo Laboratório Químico Farmacêutico da Aeronáutica" compromete-se a desenvolver a pesquisa supracitada conforme as diretrizes e normas de pesquisa envolvendo seres humanos das Resoluções nº 196/96 e 251/97 do Conselho Nacional de Saúde - Ministério da Saúde, das Boas Práticas Clínicas segundo o ICH e de acordo com a Declaração de Helsinki (1965) e as revisões de Tóquio (1975), Veneza (1983) e África do Sul (1996) e Escócia (2000). Compromete-se ainda a só utilizar os dados e os materiais biológicos obtidos para a realização das avaliações e relatórios referentes a esta pesquisa clínica.

Campinas, 30 de Setembro de 2008.



Dr. Ronilson Agnaldo Moreno
Responsável pela Etapa Clínica

Estudo: SPI129/08 Isoniazida

Documento: Protocolo

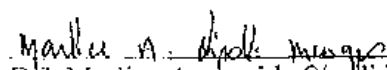
Versão: Final

Data: 30 de Setembro de 2008

TERMO DE COMPROMISSO

Dr^a. Marlice A Sípoli Marques, responsável pela etapa analítica do protocolo de pesquisa intitulado: "Estudo clínico de farmacocinética de duas formulações de Isoniazida em voluntários sadios de ambos os sexos: Isoniazida – comprimido de 300 mg - Teste - produzido pelo Instituto de Tecnologia em Fármacos - Farmanguinhos e Isoniazida-LAQFA[®] - 03 comprimidos de 100 mg - Referência - produzido pelo Laboratório Químico Farmacêutico da Aeronáutica" compromete-se a desenvolver a pesquisa supracitada conforme as diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisa envolvendo seres humanos das Resoluções nº 196/96 e 251/97 do Conselho Nacional de Saúde - Ministério da Saúde, das Boas Práticas Clínicas segundo o ICH e de acordo com a Declaração de Helsinki (1965) e as revisões de Tóquio (1975), Veneza (1983) e África do Sul (1996) e Escócia (2000). Compromete-se ainda a só utilizar os dados e os materiais biológicos obtidos para a realização das avaliações e relatórios referentes a esta pesquisa clínica.

Rio de Janeiro, 30 de Setembro de 2008.

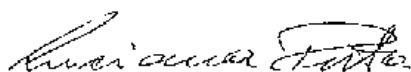


Dr^a. Marlice Apatocida Sípoli Marques
Responsável pela Etapa Analítica

TERMO DE COMPROMISSO

MSc. Luciana da Rocha Pitta, Responsável pela Etapa Estatística do Protocolo de Pesquisa Intitulado: "Estudo clínico de farmacocinética de duas formulações de Isoniazida em voluntários saudáveis de ambos os sexos: Isoniazida – comprimido de 300 mg - Teste - produzido pelo Instituto de Tecnologia em Fármacos - Farmanguinhos e Isoniazida-LAQFA® - 03 comprimidos de 100 mg – Referência - produzido pelo Laboratório Químico Farmacêutico da Aeronáutica" compromete-se a desenvolver a pesquisa supracitada conforme as diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisa envolvendo seres humanos das Resoluções nº 196/96 e 251/97 do Conselho Nacional de Saúde - Ministério da Saúde, das Boas Práticas Clínicas segundo o ICH e de acordo com a Declaração de Helsinque (1965) e as revisões de Tóquio (1975), Veneza (1983) e África do Sul (1996) e Escócia (2000). Compromete-se ainda a só utilizar os dados e os materiais biológicos obtidos para a realização das avaliações e relatórios referentes a esta pesquisa clínica.

Rio de Janeiro, 30 de Setembro de 2008.



MSc. Luciana da Rocha Pitta
Responsável pela Etapa Estatística

Título do estudo:	"Estudo clínico de farmacocinética de duas formulações de Isoniazida em voluntários sadios de ambos os sexos: Isoniazida comprimido de 300 mg (Teste) produzido pelo Instituto de Tecnologia em Fármacos - Farmanguinhos e Isoniazida-LAQFA® 03 comprimidos de 100 mg (Referência) produzido pelo Laboratório Químico Farmacêutico da Aeronáutica."
Data:	30/09/2008
Versão:	Final
Estudo No. (SPII):	029/08

DECLARAÇÃO DE CONFIDENCIALIDADE

A informação fornecida neste documento é estritamente confidencial e está disponível para revisão dos investigadores, comitês de ética e outras autoridades nacionais. Não está autorizada a divulgação sem autorização escrita do Instituto de Tecnologia de Fármacos - Farmanguinhos, exceto para os propósitos de obter o consentimento de potenciais pacientes.

SINOPSE

<i>No. de Estudo SPH</i>	029/08
<i>Código do SEFAR</i>	03.ISZ18-08BE.02
<i>Patrocinador</i>	Instituto de Tecnologia em Fármacos - Farmanguinhos
<i>Tipo de estudo</i>	Estudo clínico de farmacocinética
<i>Objetivos do estudo</i>	Caracterização da taxa e extensão de biodisponibilidade de Teste e Referência após a administração de uma dose oral única em condições de jejum. Avaliação de bioequivalência de Teste vs. Referência após administração de uma dose única, determinada por ASC_{0-12h} e C_{max} .
<i>Plano do estudo</i>	Aberto, monocêntrico, balanceado, aleatorizado de modelo cruzado em dois períodos, com administração de doses únicas em condições de jejum e com fase de suspensão do tratamento ("wash-out") de no mínimo 07 dias.
<i>População e características gerais</i>	28 voluntários saudáveis de ambos os sexos; • Idade: de 18 a 50 anos, inclusive; • IMC: $>18,5 \text{ kg/m}^2$ e $\leq 29,9 \text{ kg/m}^2$ * • Bom estado de saúde (ausência de desvios clinicamente significativos em relação a resultados normais clínicos e de exames laboratoriais).
<i>Produto Teste, dosagem e via de administração</i>	Isoniazida comprimido de 300 mg Administração Oral.
<i>Produto Referência, dosagem e via de administração</i>	Isoniazida-LAQPA® - 03 comprimidos de 100 mg - Administração Oral
<i>Análito</i>	Fármaco inalterado
<i>Duração do tratamento</i>	2 administrações individuais separadas por um período de wash-out de no mínimo 07 dias entre as administrações (≥ 7 meias vidas)
<i>Volume de sangue por amostra</i>	7,5 mL
<i>Número de amostras por voluntário</i>	16 por período
<i>Volume total de sangue coletado por voluntário</i>	300 mL
<i>Período de internação</i>	24 horas
<i>Intervalo mínimo entre as internações (wash out)</i>	07 dias
<i>Prazo para a finalização do estudo</i>	Até 6 meses após o início do estudo
<i>Metodologia analítica</i>	LC M/S M/S
<i>Características da linha de base</i>	Dados demográficos História clínica, incluindo história médica Exame físico (incl. BCG de 12 derivações, pressão arterial, temperatura e frequência cardíaca) Exames clínicos de laboratório incluindo Análise Hematológica, Análise Bioquímica, Urina I e β -HCG para mulheres (exames pré- e pós-estudo), e sorologia somente no exame pré-estudo.

Estudo: SPH29/08_Isoniazida

Documento: Protocolo

Versão: Final

Data: 30 de Setembro de 2008

SYNCHROPHAR – ASSESSORIA E DESENVOLVIMENTO DE PROJETOS CLINICOS LTDA
ESTUDO DE BIOEQUIVALÊNCIA / SPH 029/08 – ISONIAZIDA

Segurança	<p>Verificação de Pressão arterial, Temperatura e Frequência Cardíaca em horários pré estabelecidos.</p> <p>Serão relatados Eventos Adversos (EAs) observados e/ou obtidos mediante perguntas gerais ou declarados espontaneamente.</p> <p>Serão relatados, através de perguntas específicas, eventos relacionados ao Sistema Digestório até o T_{max} previsto da droga.</p>
Variáveis farmacocinéticas	<p>ASC_{0-12h}, ASC_{0-24}, C_{max}, t_{max}, $t_{1/2}$</p>
Plano para análise dos dados	<p><u>Parâmetros farmacocinéticos:</u></p> <p>Apresentação de gráficos e tabelas; estatística descritiva (média aritmética e geométrica, CV, mediana, mín., máx, SD); ANOVA; análise paramétrica; pontos estimados e intervalos de confiança de 90 % para AUC_{0-12h}, AUC_{0-24}, e C_{max}</p> <p><u>Crterios de decisão para análise confirmatória</u></p> <p>Pontos estimados e intervalos de confiança dentro da faixa 80 – 125% para AUC_{0-12h} limite superior de 125% da faixa de aceitação de 80 a 125 % não é excedida pelo C_{max}</p> <p><u>Dados demográficos, dados da investigação do pré-estudo e do pós-estudo:</u></p> <p>Serão relacionados e avaliados descritivamente (média aritmética, mediana, mín., máx).</p> <p><u>Sinais e sintomas pré-tratamento</u></p> <p>Serão relacionados e avaliados descritivamente, no que diz respeito à intensidade e ação tomada.</p> <p><u>Eventos Adversos</u></p> <p>Serão relacionados e avaliados descritivamente, no que diz respeito à intensidade, relação com a droga, resultado, ação tomada e seriedade.</p> <p><u>Eventos Relacionados ao Sistema Digestório</u></p> <p>Serão relacionados e avaliados descritivamente, no que diz respeito à intensidade e à implicância no resultado do estudo.</p>
Data planejada para início do estudo	<p>A critério do patrocinador</p>

*A faixa de normalidade do IMC é considera entre 18,5 e 30; segundo o Encontro Nacional dos Centros de Equivalência Farmacêutica e Bioequivalência - CIBIO.

FLUXOGRAMA

Procedimento	Exames pré-estudo	Agenda para períodos I e II ^A	Exames pós-estudo
Dia de estudo ^A	-30 a -2 ^B	I	I ^D a 10
Horas p.a.		12h	
Termo de consentimento ^C	✓		
História clínica incluindo história médica	✓		
Exame físico	✓		✓
Pressão e Frequência Cardíaca ^{E, C}	✓	✓	✓
Exames laboratoriais	✓		✓
BCCG ^F	✓		✓
Teste de hálito para álcool (bafômetro ^G)	✓	✓	✓
Teste de gravidez ^{C, H}	✓	✓	✓
Internação ^I		-12h a 12h p.a.	
Jejum		-08h a 4h p.a.	
Refeições e bebidas padronizadas ^J		✓	
Administração de produtos sob investigação ^K		✓	
Amostragem de sangue para análise farmacocinética ^L		00:00h a 24:00h p.a.	
Bem-estar geral (monitoramento de SSPT e EA) ^M	✓	-12h a 24h p.a.	✓
Questionamento sobre eventos relacionados ao Sistema Digestório ^N		02:00h p.a.	
Verificações sobre medicação concomitante ^M	✓	✓	✓
Controle de restrições ^O		✓	
Alta do estudo clínico			✓

- A Procedimentos idênticos serão seguidos em ambos os períodos.
- B Duração de exame βHCG, exceto exames laboratoriais (3 meses) e sorologias (6 meses)
- C Na noite da internação (anterior à administração).
- D Primeiro dia após a coleta de amostras de sangue para farmacocinética.
- E Pressão arterial e frequência cardíaca após 15 minutos de descanso em posição supina.
- F ECG: 12 derivações padrão
- G Teste de bafômetro no dia -1 somente em caso de suspeita ou por exigência do protocolo.
- H Testes de gravidez serão feitos em todas as voluntárias com potencial de gestação no dia -1 de cada período e nos exames pré e pós estudo.
- I A internação começa na noite do dia -1 em ambos os períodos.
A alta da unidade clínica será 12:00h p.a.
- J Refeições padronizadas nos dias de pré-tratamento: o jantar será finalizado 08 h antes da administração, não será permitida a ingestão de líquidos de 6 h antes a 2 h p.a.
Refeições padronizadas nos dias de estudo: jantar até 08:00h antes da administração, almoço: 4 -5 h p.a., lanche da tarde: 7-8 h p.a. e jantar 10 -12 h p.a.
- K Administração de Teste e Referência será feita com 200 mL de água sem gás (temperatura ambiente), em posição supina seguido de inspeção da cavidade oral;

Estudo: SPH29/08_Isoniazida

Documento: Protocolo

Versão: Final

Data: 30 de Setembro de 2008

SYNCHROPHAR – ASSESSORIA E DESENVOLVIMENTO DE PROJETOS CLINICOS LTDA
ESTUDO DE BIOEQUIVALENCIA / SPH 029/08 – ISONIAZIDA

- L Amostras de sangue para determinações analíticas (7,5 ml de sangue por amostra) para ambos os produtos sob pesquisa: -00:30h, 00:20h, 00:40, 01:00h, 01:20h, 01:40h, 02:00h, 02:30h, 03:00h, 03:30h, 04:00h, 05:00h, 06:00h, 08:00h, 12:00h e 24:00h p.a. (16 amostras por período).
- M Perguntas sobre bem-estar geral: No exame pré-estudo, após a internação (na noite do dia -1 para ambos os períodos do estudo) -00:30h, 02:00, 06:00h e 12:00h p.a. e no exame pós-estudo.
- N Questionamentos sobre a ocorrência de Eventos Relacionados ao Sistema Digestório. Os questionamentos serão realizados nos seguintes horários: 02:00h p.a.
- O O controle para restrições será feito em ambas as internações (dia -1).



CONTEÚDO

SINOPSE.....	10
FLUXOGRAMA	12
ABREVIATURAS	16
RESPONSABILIDADES E ENDEREÇOS PARA CONTATO.....	18
1. INTRODUÇÃO.....	20
2. OBJETIVOS DO ESTUDO.....	24
3. PLANO DO ESTUDO.....	24
3.1. TIPO DE PLANO DO ESTUDO	24
3.2- PRODUTOS SOB INVESTIGAÇÃO	25
3.2.1-Seleção das doses no estudo.....	25
3.2.2 - Identidade dos produtos sob investigação.....	25
3.2.3- Embalagem e Etiquetagem.....	25
3.3. OBTENÇÃO E CONTABILIZAÇÃO DO(S) PRODUTO(S) PARA O ESTUDO.....	26
3.4. IDENTIFICAÇÃO DOS MEDICAMENTOS.....	27
3.5. POSOLOGIA E FORMA DE ADMINISTRAÇÃO.....	27
4. DESCRIÇÃO DA POPULAÇÃO ESTUDADA	27
4.1. DETERMINAÇÃO DO TAMANHO DA AMOSTRA.....	27
4.2. SELEÇÃO AVALIAÇÃO CLÍNICA DE VOLUNTÁRIOS.....	28
4.3. EXAMES CLÍNICOS LABORATORIAIS	29
4.4. CRITÉRIOS DE INCLUSÃO DO VOLUNTÁRIO	31
4.5. CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO DO VOLUNTÁRIO	31
4.6. CRITÉRIOS DE RETIRADA DO VOLUNTÁRIO	33
4.7. CRITÉRIOS PARA DESCONTINUAÇÃO DO VOLUNTÁRIO.....	34
5. EXECUÇÃO CLÍNICA DO ESTUDO.....	34
5.1. Definição Dos Períodos Do Estudo.....	34
5.2. EXAMES PRÉ E PÓS-ESTUDO	34
5.2.1 Exames pré-estudo.....	34
5.2.2.Exames pós-estudo	35
6. LOCAL E FORMA DE CONFINAMENTO DOS VOLUNTÁRIOS	35
7. CONDUTAS PERMITIDAS E NÃO PERMITIDAS ANTES E DURANTE O ESTUDO.....	36
7.1. OUTRAS OBRIGAÇÕES E RESTRIÇÕES.....	37
7.2. HORÁRIOS DE JEJUM E DE ALIMENTAÇÃO	37
7.3. CRONOGRAMA DE COLETA DAS AMOSTRAS.....	38
8. PROCESSAMENTO E ARMAZENAMENTO INICIAL DAS AMOSTRAS.....	39
8.1. ARMAZENAMENTO E TRANSPORTE DAS AMOSTRAS.....	39
9. AVALIAÇÃO DE SEGURANÇA.....	40
9.1. REGISTRO E ANÁLISE DOS PARÂMETROS DE SEGURANÇA	41
9.2. PROCEDIMENTOS PARA REGISTRAR E COMUNICAR EVENTOS ADVERSOS E DOENÇAS INTERCORRENTES.....	41
9.3. ACOMPANHAMENTO DOS VOLUNTÁRIOS APÓS EVENTOS ADVERSOS.....	42
9.4. PROCEDIMENTOS PARA MONITORAR A ADESÃO DO VOLUNTÁRIO AO PROTOCOLO	43

Estudo: SPH29/08_isoniazida

Documento: Protocolo

Versão: Final

Data: 30 de Setembro de 2008

10. RISCOS RELACIONADOS COM A PARTICIPAÇÃO DO ESTUDO	44
10.1 Riscos relativos ao procedimento	44
10.2 Riscos relativos às drogas em investigação	44
11. IDENTIFICAÇÃO DOS DADOS A SEREM REGISTRADOS DIRETAMENTE NO FORMULÁRIO DE RELATO DE CASO (CRF)	45
11.1. TRATAMENTO DE DOCUMENTAÇÃO DE DADOS CLÍNICOS	45
12. ÉTICA	46
12.1. COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA	46
12.2. CONDUZA DO ESTUDO	46
12.3 TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO	47
12.4 CONFIDENCIALIDADE	47
12.5 RESSARCIMENTO	47
12.6 FINANCIAMENTO E SEGURO	48
12.7 MANUSEIO DOS DADOS E MANUTENÇÃO DOS REGISTROS	48
13. ETAPA ANALÍTICA E AVALIAÇÃO FARMACOCINÉTICA	48
13.1 DETERMINAÇÃO DO PERFIL FARMACOCINÉTICO DA DROGA	48
13.2 MÉTODOS DE OBTENÇÃO E REGISTRO DO MATERIAL PARA QUANTIFICAÇÃO DA DROGA	48
14. MÉTODO ANALÍTICO E VALIDAÇÃO	49
14.1 VALIDAÇÃO PRÉ-ESTUDO	49
14.2 CONTROLE DE QUALIDADE DURANTE A ANÁLISE DE ROTINA DA DROGA E CURVAS DE CALIBRAÇÃO	55
14.3 ANÁLISE DAS AMOSTRAS DO ESTUDO	55
14.4 OUTLIERS E REPETIÇÃO DE ANÁLISE	56
14.5. QUANTIFICAÇÃO DAS AMOSTRAS	56
14.6. TRATAMENTO E DOCUMENTAÇÃO DE DADOS BIOANALÍTICOS	56
15. ANÁLISE FARMACOCINÉTICA	56
15.1 PARÂMETROS FARMACOCINÉTICOS	57
15.2 DESCRIÇÃO DOS CRITÉRIOS E MÉTODOS ESTATÍSTICOS	57
15.3. SELEÇÃO DOS VOLUNTÁRIOS A SEREM INCLUÍDOS NA ANÁLISE	58
16. CONTROLE DE QUALIDADE E GARANTIA DE QUALIDADE	58
17. ACESSO DIRETO AOS DOCUMENTOS/DADOS FONTE	59
18. POLÍTICA DE PUBLICAÇÃO DOS DADOS	59
19. CRITÉRIOS DE ACEITAÇÃO DE DESVIOS DE PROTOCOLO	59
20. RELATÓRIOS	60
21. ANEXOS	60



ABREVIATURAS

ANOVA	Análise da Variância
ASC _{0-1hss1}	Área sob a curva de <i>concentração vs. tempo</i> , do tempo 0 (zero) ao tempo da última concentração
ASC _{0-∞}	Área sob a curva de concentração da droga <i>versus</i> tempo do tempo 0 (zero) extrapolada ao infinito
BPC	Boas práticas clínicas
BPF	Boas práticas de fabricação
BPL	Boas práticas de laboratório
CYP	Citocromo P
CV	Coefficiente de variação
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
C	Concentração
C _{max}	Concentração Máxima
CS	Clinicamente Significativo
CNS	Clinicamente não significativo
QC	Controle de Qualidade
DP	Desvio padrão
ECG	Eletrocardiograma
EA	Evento adverso
EAS	Evento adverso sério
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
CRF	Formulário de relatório de caso - <i>Case Report Form</i>
FC	Frequência cardíaca
IMC	Índice Massa corporal
IRB	<i>Institutional Review Board</i>
ICH	<i>International Conference on Harmonisation</i>
LQ	Límite de Quantificação
LIQ	Límite inferior de quantificação
LSQ	Límite superior de quantificação



SYNCHROPIAR – ACESSORIA E DESENVOLVIMENTO DE PROJETOS CLINICOS LTDA
ESTUDO DE BIOEQUIVALENCIA / SPH 029/08 – ISONIAZIDA

ULN	Límite superior de valores normais (Upper Limit of Normal Values)
LDL	Lipoproteínas de baixa densidade
max	Máximo
min	Mínimo
n. d.	Não detectável
p.a.	Pós-administração
PA	Pressão arterial
SCPCM	Sistema de Controle de Pesquisas Clínicas de Medicamentos
SSPT	Sinais e sintomas pré-tratamento
T _{max}	Tempo no qual ocorre a maior concentração alcançada
LC-MS/MS	Tandem de espectrometria líquida com espectrometria de massas
UGQ	Unidade da Garantia da Qualidade

Estudo: SPH29/08_Isoniazida
Documento: Protocolo
Versão: Final
Data: 30 de Setembro de 2008



RESPONSABILIDADES E ENDEREÇOS PARA CONTATO

ETAPA	LOCAL	RESPONSÁVELS
INVESTIGADOR PRINCIPAL	Fundação Oswaldo Cruz/Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas - Serviços de Farmacocinética/IPEC-SEFAR Av. Brasil, nº 4365 - Manginhos - Rio de Janeiro - RJ - CEP: 21.045-360 Tel: (21) 2560 0885	Eduardo Werneck Barroso, M.D., PhD Médico CRM 5241807-7
RESPONSÁVEL PELA ETAPA CLÍNICA	Synchrophar – Ass. e Desenv. de Projetos Clínicos Ltda. R: Engenheiro Cândido Gomide, 38 Campinas – SP CEP: 13070-200 Tel: (55) (19) 3233 6383	Ney Carter do Carmo Borges M.D., M.Sc., PhD Médico CRM: 50.535 Ronilson Agnaldo Moreno B.Sc., M.Sc., Ph.D Biólogo
COORDENAÇÃO DO CENTRO	Synchrophar – Ass. e Desenv. de Projetos Clínicos Ltda. R: Engenheiro Cândido Gomide, 38 Campinas – SP CEP: 13070-200 Tel: (55) (19) 3233-6383	Cláudia Cristiana Domingues Enfermeira COREN: 70.957
COORDENAÇÃO DE PESQUISA CLÍNICA	Synchrophar – Ass. e Desenv. de Projetos Clínicos Ltda. R: Engenheiro Cândido Gomide, 38 Campinas – SP CEP: 13070-200 Tel: (55) (19) 3233-6383	Valery Aleksandravicius de Carvalho Biólogo CRBio 61852/01-D
AVALIAÇÃO CLÍNICA	Synchrophar – Ass. e Desenv. de Projetos Clínicos Ltda. R: Engenheiro Cândido Gomide, 38 Campinas – SP CEP: 13070-200 Tel: (55) (19) 3233-6383	Dr. Ney Carter do Carmo Borges Dra. Kélcia Rosana da Silva Quadros Dr. Sandro Silva Vitela Dr. Ricardo Pereira Moreira Dra. Fabiana Duarte Mendes e Módulo Dr. Celso Henrique de Oliveira Médico CRM: 50.535 Médica CRM: 81.194 Médico CRM: 100.506 Médico CRM: 115.858 Médica CRM: 97708 Médico CRM: 79.471
ETAPA CLÍNICA	Hospital Imãdos Pentecado Rua Júlio de Mesquita, 571. Cambui Campinas, SP, Brasil. CEP: 13015-130. Tel. (19) 3737-7061	Dr. Ronilson Agnaldo Moreno Dr. Ney Carter do Carmo Borges Dra. Kélcia Rosana da Silva Quadros Dr. Sandro Silva Vitela Dr. Ricardo Pereira Moreira Dra. Fabiana Duarte Mendes e Módulo Dr. Celso Henrique de Oliveira Biólogo Médico CRM: 50.535 Médica CRM: 81.194 Médico CRM: 100.506 Médico CRM: 115.858 Médica CRM: 97708 Médico CRM: 79.471
PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS LABORATORIAIS	Laboratório CENTROLAB Diagnóstico Clínico (CDC)- Rua José Mileni, 467 - Centro - Valinhos - SP CEP 13 270-270 Fone / Fax : (19) 3869.3099	Dr. Ronaldo Selmi Médico CRM: 48.201
ANÁLISE DAS AMOSTRAS	Fundação Oswaldo Cruz/Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas - Serviços de Farmacocinética/IPEC-SEFAR Av. Brasil, nº 4365 - Manginhos - Rio de Janeiro - RJ - CEP: 21.045-360 Tel: (21) 2560 0885	Marlice Ap. Sipoli Marques Farmacêutica CRF: 3735

Estudo: SPH29/08_Isoniazida

Documento: Protocolo

Versão: Final

Data: 30 de Setembro de 2008

SYNCHROPHAR – ASSESSORIA E DESENVOLVIMENTO DE PROJETOS CLINICOS LTDA
 ESTUDO DE BIOEQUIVALENCIA / SPH 029/08 – ISONIAZIDA

ANÁLISE FARMACOCINÉTICA E ESTATÍSTICA	Serviço de Farmacocinética Inst. de Pesquisa Clínica Evandro Chagas Fundação Oswaldo Cruz Avenida Brasil, 4365 – Manguinhos 21040-360 - Rio de Janeiro - RJ Tel: (55) (21) 3865-9568	Dr. Eduardo Werneck Harroso Msc. Luciana da Rocha Pitta	Médico Estatística
GERENTE DA QUALIDADE	Synchrophar - Ass. e Desenv. de Projetos Clínicos Ltda. R: César Bierrenbach, 24 – SI 52 Campinas - SP CEP: 13015-025 Tel: (55) (19) 3234-2834	Sandro Evandir de Oliveira	Mestre – F.C.M. – Unicamp

Estudo: SPH29/08_Isoniazida
 Documento: Protocolo
 Versão: Final
 Data: 30 de Setembro de 2008

I. INTRODUÇÃO

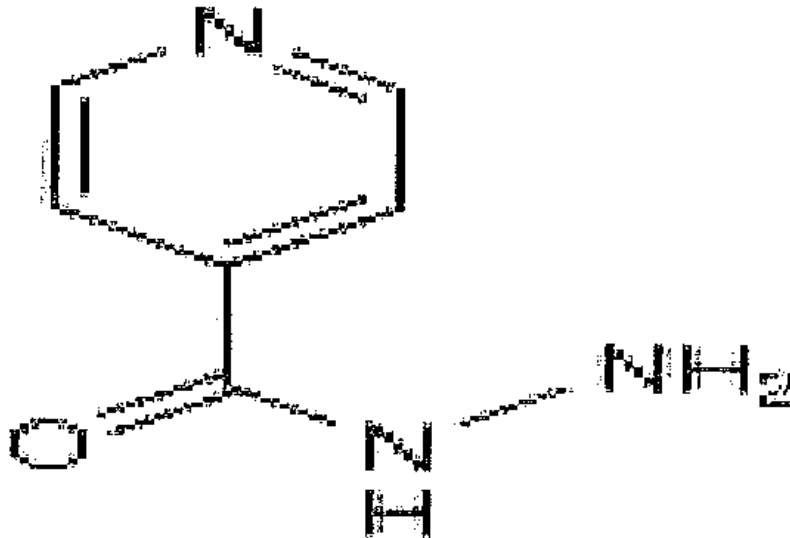
A Isoniazida é uma hidrazida derivada de ácido isonicotínico. Antituberculoso bactericida sintético, agindo somente contra micobactérias, principalmente aquelas que se dividem ativamente¹.

A Isoniazida é uma das três drogas mais importante no tratamento de tuberculose². O tratamento da tuberculose é feito geralmente pela associação da Isoniazida com Rifampicina e Pirazinamida³.

É um fármaco descrito quimicamente como, Ácido 4,piridinocarboxílico hidrazina⁴, é um fármaco que apresenta a fórmula molecular $C_6H_7N_3O$ e peso molecular 137,1

O fármaco é um cristal incolor ou branco ou pó cristalino branco. É inodoro e lentamente afetado através de exposição ao ar e luz. É solúvel em água; moderadamente solúvel em álcool, e ligeiramente solúvel em clorofórmio e em éter.⁵

Segue abaixo sua fórmula estrutural:



Seu mecanismo de ação não é conhecido, mas pode atuar por inibição da síntese do ácido micólico e ruptura da parede celular em organismos sensíveis.¹

Alguns estudos mostram que os acetiladores rápidos têm um risco aumentado de desenvolverem toxicidade hepática devida à indução enzimática causada pela isoniazida. Outros estudos mostram precisamente o contrário! Como a NAT2 é também responsável

pela destoxificação dos metabolitos agressivos, se esta reacção se processa de uma forma mais lenta, a toxicidade irá ser maior.

É a existência de uma enzima semelhante à NAT2 no *Mycobacterium tuberculosis* que justifica a acção da isoniazida como tuberculostático e a resistência ao mesmo composto.⁶

Sua absorção ocorre facilmente após a administração oral ou parenteral, distribui-se em todos os líquidos e tecidos¹. Porém é reduzida se ingerida juntamente com alimentos⁷.

A dosagem recomendada é de 5mg/Kg chegando ao máximo em 300 mg diários. Doses de 1,5 g ou mais são potencialmente tóxicas e doses de 10 a 15 g podem ser fatais sem o tratamento adequado⁸.

Na administração por via oral, o pico de concentração plasmática ocorre em aproximadamente 2 horas (em jejum).⁵ Sua taxa e extensão de absorção são reduzidas quando administradas juntamente com alimentos.⁸ Há acetiladores rápidos e lentos, sendo estes mais propensos a manifestações de hepatotoxicidade¹. A Isoniazida atravessa a barreira placentária e é excretada no leite⁵. É um fármaco com baixa taxa de ligação as proteínas e distribuição nos tecidos e fluidos corporais.⁵

Sua meia vida de eliminação é de aproximadamente 1 a 6 horas. Sua principal via metabólica é a acetilação da isoniazida para acetilisoniazida pela N-acetiltransferase, encontradas no fígado e intestino delgado. Os metabolitos de Isoniazida não têm nenhuma atividade tuberculostática, eles são menos tóxicos. Pode-se conjugar a Isoniazida não-acetilada de forma parcial. Em pacientes com função renal normal, mais de 75% da dose aparece na urina em 24 horas principalmente como metabolitos.⁵

A Isoniazida isolada é indicada para o tratamento de tuberculose (TBC) e associada com outros antituberculosos no tratamento da TBC, meningite tuberculosa, infecções micobacterianas atípicas.¹

É um medicamento contra-indicado em indivíduos que tenham reacções de hipersensibilidade severas, incluindo hepatite droga-induzida. Previamente disfunção hepática associado a Isoniazida⁵. Também é contra-indicada em indivíduos com alcoolismo ativo ou tratado.¹

Algumas precauções e advertências devem ser tomadas: a Isoniazida deve ser tomada de forma simultânea com a Piridoxina, para evitar ou minimizar os sintomas de neurite periférica, exceto em crianças se a dieta for adequada. Deve-se evitar a ingestão de bebidas alcoólicas durante o tratamento com o fármaco.

Isoniazida deve ser utilizada com precaução em pacientes com perturbações convulsivas, com histórico de psicose, insuficiência hepática ou renal.

Cuidadosa monitorização devem ser consideradas para negros e mulheres hispânicas, nos quais poderá haver um aumento do risco de hepatite fatal⁸.

Efeitos hematológicos relatados sobre a utilização de isoniazida incluem diversas anemias, agranulocitose, trombocitopenia e eosinofilia. Menos de 1% dos pacientes apresentam reações cutâneas, incluindo urticária, púrpura, lúpus eritematoso e dermatite exfoliativa⁸.

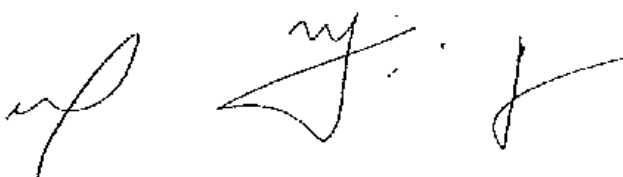
Neuropatia periférica é o efeito tóxico mais comum. Outros efeitos neurotóxicos incomum com doses convencionais são: convulsões, encefalopatia tóxica, neurite, prejuízo de memória, e psicose tóxica.

Efeitos hepáticos como elevação das Transaminases (SGOT; SGPT), bilirrubinemia, bilirrubinúria, icterícia ocasionalmente severo e às vezes hepatite fatal. Também foram relatadas agranulocitose, eosinofilia, trombocitopenia, anemia hemolítica, sideroblástica ou aplástica.⁵

Outros efeitos adversos incluem: náuseas, vômito, boca seca, constipação, febre, vertigem, vasculite, hiperreflexia, retenção de urina e Ginecomastia⁸.

Isoniazida pode inibir o metabolismo hepático de várias drogas, em alguns casos, levando ao aumento da toxicidade: os corticóides e glicocorticóides podem aumentar o metabolismo ou a excreção da mesma, com diminuição das concentrações plasmáticas. O uso diário e simultâneo de álcool pode aumentar o efeito anticoagulante da cumarina e indandiona e inibir a eliminação de Diazepam e Triazolam aumentando suas concentrações plasmáticas. Diminui as concentrações séricas do Ketoconazol; pode produzir deficiência de ácido nicotínico, inibindo sua incorporação dinucleotídeo de adenina e nicotinamida. Inibe a paraidroxilação da Fenitoína, com o aumento das concentrações séricas desta.¹

A superdosagem da Isoniazida produz sinais e sintomas dentro de 30 minutos a 3 horas após sua ingestão. Náusea, vômito, vertigem, pronúncia da fala inarticuladamente e alucinações visuais, são os sintomas mais frequentes.⁵



Referências Bibliográficas:

- 1- P.R. vade-mécum. -- 6.ed. -- São Paulo: Soriak, 2000, pp: 106-107.
- 2- C. A. Peloquin, R. Namdar, A. A. Dodge, D. E. Nix . Pharmacokinetics of isoniazid under fasting conditions, with food, and with antacids. *The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease*. Int J Tuberc Lung Dis 3(8):703–710.
- 3- Shrutidevi Agrawal, Kanwal Jit Kaur, Inderjit Singh, Shantaram R. Bhade, Chaman Lal Kaul, Ramesh Panchagnula . Assessment of bioequivalence of rifampicin, isoniazid and pyrazinamide in a four drug fixed dose combination with separate formulations at the same dose levels. *International Journal of Pharmaceutics* 233 (2002) 169–177. .
- 4- Bula Isoniazida. Disponível em: http://www.pdamed.com.br/dicioned/pdamed_0001_10159.php. Acesso em 14/04/2008.
- 5- Mosby's Drug consult, 2006. Disponível em: [http://127.0.0.1:8080/rami?COMMAND=applystylesheet\(mp5@ix_mdc.xsl,mp5@mdc/e1585.pub\)&p_mode=drug](http://127.0.0.1:8080/rami?COMMAND=applystylesheet(mp5@ix_mdc.xsl,mp5@mdc/e1585.pub)&p_mode=drug). Acesso em 11/04/2008.
- 6- Disponível em: <http://www.ff.up.pt/toxicologia/monografias/ano0304/Tuberculose/doc/ise%20toxico.htm>. Acesso em 17/04/2008.
- 7- Bula Valifol®. Disponível em: plm.wyeth.com.mx/20626.htm. Acesso em 14/04/2008.
- 8- Martindale: The Complete Drug Reference, 2008. Disponível em: <http://www.medicinescomplete.com/mc/martindale/current/7559-k.htm#m7559-a4-x>. acesso em 14/04/2008.



2. OBJETIVOS DO ESTUDO

Avaliar se a formulação de Isoniazida (comprimido de 300 mg produzido pelo Instituto de Tecnologia em Fármacos – Farmanguinhos produto teste) atinge níveis plasmáticos equivalentes aos da formulação de Isoniazida-LAQFA® 03 comprimidos de 100 mg - produto referência, produzido pelo Laboratório Químico Farmacêutico da Aeronáutica), quando administrada em 28 voluntários sadios adultos de ambos os sexos.

A biodisponibilidade comparativa das formulações seguida à administração oral será avaliada com base em comparações estatísticas de parâmetros farmacocinéticos relevantes obtidos de dados de concentração plasmática da droga (fármaco inalterado).

3. PLANO DO ESTUDO

O estudo é delimitado de forma a permitir que se obtenham os parâmetros farmacocinéticos relevantes para a comparação estatística visando a averiguação de bioequivalência. Neste estudo, tais parâmetros são obtidos diretamente a partir da determinação da concentração plasmática do princípio ativo do medicamento, baseado na aplicação de um modelo não compartimental, próprio para avaliação destas concentrações após a administração do medicamento por via oral.

3.1. TIPO DE PLANO DO ESTUDO

O estudo será aberto, monocêntrico, balanceado, aleatorizado, cruzado, com 2 tratamentos, 2 seqüências, 2 períodos, nos quais os voluntários recebem, em cada período, a formulação teste ou a formulação referência. A seqüência de tratamento atribuída a cada voluntário nos períodos de estudo é determinado por uma lista de aleatorização gerada automaticamente pelo sistema R2.2.

As formulações serão administradas em dose única por via oral seguidos de coletas de sangue de pelo menos 3 meias vidas. Os períodos de tratamento devem obedecer um intervalo mínimo de 7 meias-vidas entre eles (período de wash out da droga), sendo deste estudo 07 dias de intervalo.

Os voluntários serão aleatoriamente designados a uma das seguintes seqüências de tratamento.

Tabela 1: Definição das seqüências de tratamento

Seqüência	Período I	Período II
1	Referência	Teste
2	Teste	Referência



3.2- PRODUTOS SOB INVESTIGAÇÃO

3.2.1-Seleção das doses no estudo

Neste estudo a dose única será de 1 comprimido de 300 mg de Isoniazida e 3 comprimidos de 100mg de Isoniazida-LAQFA[®], dose individual escolhida.

3.2.2 - Identidade dos produtos sob investigação

O produto Referência está registrado no Laboratório Químico Farmacêutico da Aeronáutica. As amostras terão sua origem diretamente a partir de lotes de produção. O produto teste foi produzido pelo Instituto de Tecnologia em Fármacos - Farmanguinhos.

Antes do início do estudo o produto Teste é verificado pelo Instituto de Tecnologia em Fármacos - Farmanguinhos. Em relação aos parâmetros relevantes de qualidade farmacêutica, especialmente a dissolução *in vitro* comparada com a referência. Os lotes selecionados para o estudo devem ser de qualidade adequada e devem ser fabricados de acordo com as normas de BPF (Boas Práticas de Fabricação).

As seguintes amostras de produtos sob investigação foram escolhidas para o estudo (Tabela 2):

Informação Farmacêutica	Produto Teste	Produto Referência
Nome do produto	Isoniazida	Isoniazida-LAQFA [®]
Fabricante	Instituto de Tecnologia em Fármacos - Farmanguinhos	Laboratório Químico Farmacêutico da Aeronáutica
Ingrediente Ativo	Isoniazida	Isoniazida
Formulação	Comprimido	Comprimido
Dosagem	300 mg	100 mg
Número de lote	06102382	07090034
Data de Fabricação	10/2006	09/2007
Data de Validade	10/2008	09/2010
Endereço	Av. Comandante Guarany, 447 Jacarepaguá - 22775 610 Rio de Janeiro – RJ	Estrada do Galeão s/nº – Ilha do Governador Rio de Janeiro – RJ CEP: 21.941-000

3.2.3- Embalagem e Etiquetagem

Os produtos sob investigação serão embalados de forma individual para cada voluntário incluído no estudo clínico. O número de unidades a serem embaladas será especificado no item 3.2.1., deste protocolo. Uma quantidade extra de medicamento, conforme critério do farmacêutico responsável, será enviada em envelope lacrado, para eventuais perdas até o momento da administração.

Estudo: SPH29/08_isoniazida

Documento: Protocolo

Versão: Final

Data: 30 de Setembro de 2008

A etiqueta do medicamento deve ser padronizada conforme as figuras abaixo (modelo):

Teste:

Voluntário No:	TESTE	
Qtde.: un.		
FASE:	ISONIAZIDA	SPH:
Lote no:	Data expiração:	
Instituto de Tecnologia em Fármacos - Farmanguinhos		
Farm.: Eduardo Zambon Orpinelli CRF: 27.481 Data e Hora		

Referência

Voluntário No:	REFERÊNCIA	
Qtde.: un.		
FASE:	Isoniazida-LAQFA [®]	SPH:
Lote no:	Data expiração:	
Laboratório Químico Farmacêutico da Aeronáutica		
Farm.: Eduardo Zambon Orpinelli CRF: 27.481 Data e Hora		

Todas as medicações serão armazenadas em caixas codificadas não identificadas, segundo as condições de armazenamento especificadas pelo fabricante (Armazenamento entre 15°C e 30°C, protegida da luz e da umidade) ou conforme orientação do fabricante. Um número adequado de amostras de retenção para cada produto será armazenado no local do pesquisador.

3.3. OBTENÇÃO E CONTABILIZAÇÃO DO(S) PRODUTO(S) PARA O ESTUDO

O medicamento teste deve ser enviado pelo patrocinador ou centro de equivalência farmacêutica. Se o medicamento teste já esteja no mercado, este pode ser adquirido pelo centro responsável pelo estudo. Deverão ser enviadas quantidades extras da(s) formulação(ões) teste tanto para fins de retenção de amostras como para a administração da(s) mesma(s). A formulação referência deverá ser adquirida conforme RE 41/2000.

Estado: SPH29/08_Isoniazida

Documento: Protocolo

Versão: Final

Data: 30 de Setembro de 2008

Os frascos dos medicamentos terão tampas com cores distintas para diferenciar a medicação teste da medicação referência.

Ao final de cada confinamento, a medicação remanescente (ambos os produtos) será enviada de volta para a Synchrophar (Unidade Rua Candido Gomide nº 38) em suas embalagens originais, incluindo as parcialmente utilizadas e as não utilizadas, que serão conservadas como amostras de retenção extra, em quantidade suficiente para a repetição do estudo.

A Synchrophar manterá em local próprio, amostras de retenção de ambas formulações até um ano após o vencimento do prazo de validade mais longo. Será mantido um inventário com o registro das drogas recebidas, administradas, devolvidas, enviadas ao patrocinador ou retidas.

3.4. IDENTIFICAÇÃO DOS MEDICAMENTOS

Formulação Referência: Isoniazida-LAQFA® - 03 comprimidos de 100 mg produzido pelo Laboratório Químico Farmacêutico da Aeronáutica

Formulação Teste: Isoniazida – comprimido de 300 mg produzido pelo Instituto de Tecnologia em Fármacos - Farmanguinhos.

3.5. POSOLOGIA E FORMA DE ADMINISTRAÇÃO

Os voluntários receberão em cada um dos períodos de internação, 01 comprimido contendo 300 mg de Isoniazida e 03 comprimidos de 100mg de Isoniazida-LAQFA® acima discriminados, por via oral em dose única, com um copo de água mineral sem gás e em temperatura ambiente (200 mL), seguindo a aleatorização do estudo (Anexo 1).

4. DESCRIÇÃO DA POPULAÇÃO ESTUDADA

A população a ser estudada será constituída de 28 voluntários sadios, adultos de ambos os sexos com idade de 18 a 50 anos, com índice de massa corpórea maior ou igual a 18,5 e menor ou igual a 29,9. Não há restrições quanto ao grupo étnico. Os voluntários serão recrutados entre aqueles que se apresentem à Unidade Clínica.

4.1. DETERMINAÇÃO DO TAMANHO DA AMOSTRA

O tamanho da amostra do estudo - N= 28 voluntários - foi baseado nos seguintes itens:

- 1- literatura específica e estudos já realizados pelo centro clínico.
- 2- estimativa da variabilidade intra/inter individual da droga
- 3- Possíveis drop outs.
- 4- segurança de um poder estatístico confiável, assumindo que as formulações em estudo serão consideradas com biodisponibilidade equivalente quando o intervalo de confiança (IC) de 90% da média geométrica da ASC (no que diz respeito à extensão da absorção), C_{max} (no que diz respeito à velocidade de absorção), estiverem dentro do intervalo de 80-125% da média geométrica da formulação referência.



4.2. SELEÇÃO AVALIAÇÃO CLÍNICA DE VOLUNTÁRIOS

A seleção de voluntários será realizada na Synchrophar, através da unidade responsável pela Etapa Clínica. Um mínimo de 28 voluntários sadios de ambos os sexo, sendo 14 homens e 14 mulheres, serão selecionados diretamente da população da região, uma vez que não está ainda definido de que estudo eles participarão.

Os voluntários serão aceitos no estudo somente se forem considerados saudáveis, a juízo de profissionais legalmente habilitados, com base na história médica, exame físico e os exames laboratoriais que antecedem a admissão no estudo.

Os voluntários são recrutados por meio de rede relacionamentos, contato com voluntários já cadastrados ou pelo cadastro via internet disponível no site do Centro de Pesquisa. As pessoas interessadas são orientadas a comparecer ao local de recrutamento em hora marcada pelo telefone, para uma palestra. Nesta palestra será abordado: o que é recrutamento, como se dá o processo de recrutamento, como é uma pesquisa clínica em linhas gerais, que existe a necessidade de uma consulta médica e uma série de exames prévios para avaliar a saúde do candidato. O candidato é informado também sobre o termo de consentimento, comitê de ética, etc.

Se o candidato decidir cadastrar-se como voluntário, dirigi-se à recepção, que realiza a confirmação da coleta de dados pessoais (tais como: nome, data de nascimento, CPF, RG, sexo, grau de instrução, estado civil, endereço, telefone dos voluntários), anteriormente coletadas. Posteriormente, o voluntário é encaminhado para consulta de enfermagem, a fim de se obter assinatura do Termo de Recrutamento (Anexo 3) em duas vias (uma via é fornecida ao voluntário e a outra arquivada em sua documentação), e realização da consulta de enfermagem (história clínica, dados antropométricos, sinais vitais e teste de hemoglobimetria). Em posse do resultado do teste de hemoglobimetria, dados antropométricos e sinais vitais, segundo o critério de inclusão do estudo, será definido pelo prosseguimento do voluntário no processo de recrutamento, considerando apto ou inapto, se for considerado inapto, este recebe as orientações pertinentes e se necessário será encaminhado para o serviço de saúde. Os voluntários aptos, serão encaminhados para consulta médica para realização do exame físico e anamnese. Caso o voluntário seja considerado apto será encaminhado para fazer exames laboratoriais, segundo Resolução RE nº 894, de 29 de maio de 2003 (Hemograma, bioquímica, teste de gravidez (β HCG) para as mulheres e sorologia para HIV, Hepatite B e C) e exames complementares, caso contrário o voluntário receberá as orientações pertinentes e se necessário será encaminhado para o serviço de saúde. Após o recebimento e avaliação dos resultados dos exames laboratoriais e complementares, o médico avaliará a aptidão do voluntário para participação no estudo ou, em caso contrário, receberá orientações pertinentes e se necessário será encaminhado para o serviço de saúde.

Os voluntários serão também informados sobre as restrições de uso de medicamentos e demais quesitos (diretrizes e restrições) constantes neste Protocolo.

Uma vez confirmada a aptidão, os voluntários terão esclarecidas todas as dúvidas restantes, e caso concordem, assinarão o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Anexo 04) para participação no estudo.



Os voluntários considerados aptos para participar do estudo, serão internados por dois períodos de aproximadamente 24 horas cada, com intervalo mínimo de 07 dias entre as internações, devendo retornar à Clínica ou hospital para a coleta de amostra correspondente ao tempo de 24:00h após a administração do medicamento, em cada período de internação, conforme tabela 7, do item 7.3.

4.3. EXAMES CLÍNICOS LABORATORIAIS

Para fins de avaliação das condições de saúde, durante o processo de seleção os voluntários realizarão os testes apresentados na tabela abaixo:

Tabela 03: Exames Laboratoriais a serem referenciados no CRF

Categoria	Exames
ECG	ECG padrão com 12 derivações
Análise hematológica	hemoglobina, hematócrito, contagem total e diferencial de leucócitos, contagem de glóbulos vermelhos, contagem de plaquetas.
Análise Bioquímica	Uréia, creatinina, bilirrubina total, proteínas totais, albumina, glicose em jejum, fosfatase alcalina, SGOT, SGTP, colesterol total, triglicérides, ácido úrico, γ GT.
Urina	Sumário de Urina (urina I)
Sorologia	Análise Sorológica para: hepatite B, hepatite C e HIV(1+2)
Teste para gravidez	β HCG (para mulheres)

Os resultados dos exames de laboratório serão considerados “normais” quando dentro da faixa de valores declarada pelo laboratório. No entanto, os valores alterados dos resultados dos exames também podem ser considerados “normais” caso o Investigador ou médico responsável os julguem como clinicamente não significativos CNS. Caso, a juízo do investigador haja necessidade de repetição de exames para certificar-se da aptidão do voluntário esta será realizada antes da seleção do voluntário. Alterações dos kits de teste utilizados, após a aprovação deste Protocolo, resultando em novas faixas de normalidade, serão referenciadas nos CRFs e no Relatório Clínico.

O eletrocardiograma será avaliado por um cardiologista da equipe de avaliação clínica da Synchrophar, que deverá informar se os achados específicos são julgados como normais, anormais CNS ou anormais. O médico clínico responsável informará se o voluntário é considerado apto a participar do estudo. O relatório do ECG será mantido como parte da documentação do estudo.

Deve ser registrado no Formulário de Relato de Caso (CRF) dos voluntários sempre que um resultado de exame for considerado como “clinicamente não significativo” (CNS), a juízo do Investigador.

Antes da admissão no estudo, os voluntários deverão submeter-se a um exame clínico, que deverá ser explicitamente documentado no Formulário de Relato do Caso (CRFs), englobando a revisão dos seguintes itens:

Tabela 04: Itens da História Clínica e Exame físico a serem referenciados no CRF

<u>Categoria</u>	<u>Exames</u>
<u>História Médica</u>	Alergias; olhos, nariz e garganta; sistemas respiratório, cardiovascular, gastrointestinal, genito urinário, nervoso central, hematopoético-linfático, endócrino; dermatológico, musculoesquelético; estabilidade emocional, história familiar, cirúrgica.
<u>Exame Físico</u>	olhos, orelhas, nariz, garganta, pescoço (incluindo tireóide), coração, pulmões, abdome (incluindo fígado e baço), pele, linfonodos, sistema nervoso, esqueleto e músculos.
<u>Dados antropométricos</u>	Pressão arterial (medida 15 minutos após descanso, na posição sentada; pulso; altura; peso - roupas leves; índice de massa corpórea; temperatura em °C).

A pressão arterial será considerada como normal dentro dos seguintes limites: 90-139 mm Hg para a sistólica e 50-89 mm Hg para a diastólica. A frequência cardíaca dentro de 50-100 b.p.m será considerada normal. A temperatura corporal dentro de 35,5°C a 37,5°C será considerada normal. Em caso de valores destes exames encontrarem-se fora daqueles considerados como “normais”, o investigador poderá repeti-los a fim de certificar-se da aptidão do voluntário.

O Índice de Massa Corpórea será considerado normal quando maior ou igual a 18,5 e menor ou igual a 29,9.

Deverá ser anotado pelo Investigador na ficha clínica de cada voluntário qualquer anormalidade de história médica e exame físico considerada CNS, conforme julgado pelo próprio Investigador.

Os exames laboratoriais deverão ser realizados em um período não superior a 3 meses que antecedem a primeira administração da medicação. Já os exames de β HCG e as sorologias têm duração de 30 dias e 6 meses respectivamente.

Os exames clínicos deverão ser realizados em um período não superior a 30 dias que antecedem a administração da medicação.

O teste de gravidez (HCG na urina) será feito na noite das internações.

Os exames laboratoriais pós-estudo e ECG serão repetidos cerca de 10 dias após a última coleta de sangue do ensaio, em horário previamente estabelecido. Após o recebimento destes resultados, em data já agendada por ocasião da coleta dos exames, os voluntários deverão comparecer para o exame clínico de alta, data em que serão, em princípio, dispensados. No

entanto, o acompanhamento de um ou mais voluntários poderá ser prolongado, implicando ou não a realização de consultas ou exames laboratoriais adicionais, em função de possíveis eventos adversos detectados.

4.4. CRITÉRIOS DE INCLUSÃO DO VOLUNTÁRIO

Os seguintes critérios devem ser satisfeitos para que o voluntário possa participar do estudo:

- Homens e mulheres na idade entre 18 a 50 anos, inclusive;
- Mulheres não grávidas e que não estejam amamentando;
- O voluntário que tenha seu índice de massa corpórea maior ou igual a 18,5 e menor ou igual a 29,9;
- Fumantes e não fumantes. Caso sejam incluídos fumantes, os mesmos devem ser identificados;
- Boas condições de saúde ou sem doenças significativas, a juízo de um profissional legalmente habilitado, de acordo com as regras definidas no Protocolo, e avaliações a que foi submetido: história clínica, medidas de pressão arterial e frequência cardíaca, exame físico, ECG, e exames laboratoriais complementares;
- Capaz de compreender a natureza e objetivo do estudo, inclusive os riscos e efeitos adversos e com intenção de cooperar com o Investigador e agir de acordo com os requerimentos de todo o ensaio, o que vem a ser confirmado mediante a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Tabela 05: Classificação da obesidade segundo o índice de massa corpórea (IMC):*

IMC (Kg/m ²)	Classificação	Obesidade grau
< 18,5	Magro ou desnutrido	0
18,5 – 24,9	Normal	0
25 – 29,9	Sobrepeso	0
30 – 34,9	Obesidade	I
35 – 39,9	Obesidade	II
> 40	Obesidade grave	III

*WHO. Consultation on Obesity. Preventing and Managing the global Epidemic. Geneva: World Health Organization, 1998.

4.5. CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO DO VOLUNTÁRIO

Os seguintes critérios excluirão o voluntário do estudo:

Problemas relacionados com a droga:

- O voluntário tem sabidamente hipersensibilidade à droga em estudo (Isoniazida) ou a compostos quimicamente relacionados;
- Uso de terapia de manutenção com qualquer droga excetuando-se anticoncepcionais.

Doenças ou problemas de saúde:

- História ou presença de doenças hepáticas ou gastrointestinais ou outra condição que interfira com absorção, distribuição, excreção ou metabolismo da droga;
- História de doença renal, pulmonar, epiléptica, hematológica ou psiquiátrica; tem hipo ou hipertensão de qualquer etiologia que necessite de tratamento farmacológico; tem história ou teve infarto do miocárdio, angina e/ou insuficiência cardíaca;
- Achados eletrocardiográficos não recomendados a critério do Investigador Principal para participação no estudo;
- Os resultados dos exames laboratoriais estão fora dos valores considerados normais de acordo com as normas deste protocolo, a menos que sejam considerados clinicamente não significativos pelo Investigador.

Hábitos e dependências:

- - Tem história de abuso de álcool ou drogas ou consumo expressivo de álcool;
- Voluntários que estejam em dieta que possa afetar a farmacocinética da droga;
- O voluntário ingere mais do que 5 xícaras de café ou chá por dia.

Condições encontradas nos dias/meses que antecedem o estudo:

- Fez uso de medicação regular dentro das 2 semanas que antecederam o início do tratamento e a data de avaliação, ou fez uso de qualquer medicação dentro de uma semana, excetuando-se anticoncepcionais por via oral. O uso eventual de medicação, que a juízo do Investigador ou médico responsável não interfere na farmacocinética da droga não será considerado como critério de exclusão;
- Foi internado por qualquer motivo entre 8 semanas do início do primeiro período de tratamento deste estudo e a data da avaliação;
- Tratamento dentro dos 3 meses prévios ao estudo com qualquer droga conhecida de ter um potencial tóxico;
- O voluntário participou de qualquer estudo experimental ou ingeriu qualquer droga experimental dentro dos 6 meses que antecedem o início deste estudo e a data da avaliação;
- O voluntário doou ou perdeu 450 ml. ou mais de sangue dentro dos quatro meses que antecederam ao estudo ou doou mais de 1500 mL dentro dos 12 meses entre o início do tratamento do estudo e a data de avaliação.



Outras condições:

- História de reações adversas sérias ou hipersensibilidade a qualquer droga;
- Teste positivo de gravidez para as voluntárias mulheres;
- O voluntário tem qualquer condição que o impede de participar do estudo pelo julgamento do Investigador.

4.6. CRITÉRIOS DE RETIRADA DO VOLUNTÁRIO

Solicitação por parte do voluntário para se retirar do estudo a qualquer momento:

- Voluntário não deseja continuar no estudo por razões pessoais (ou sem razão justificada);
- Voluntário não deseja continuar no estudo devido os eventos adversos da droga de estudo (efeitos não desejáveis possivelmente relacionados à droga em estudo);
- Voluntário não deseja continuar por razões outras que não efeitos adversos por exemplo indisponibilidade, intolerância aos procedimentos do estudo, ou mesmo vontade própria.

O Investigador pode retirar o voluntário do estudo por uma das seguintes razões:

- Resposta positiva à reavaliação de qualquer um dos critérios de exclusão, no momento da admissão ao primeiro período de tratamento ou em ocasião subsequente;
- Voluntários que vomitarem logo após a administração da medicação e/ou no tempo equivalente a duas vezes o T_{max} da droga em estudo;
- Não aderência às exigências do protocolo;
- Eventos adversos, sintomas ou sinais de possível toxicidade;
- Doença intercorrente requerendo medicação;
- Qualquer outra condição que, a juízo do Investigador, seja do interesse para manutenção da saúde do voluntário;
- Falta de mais de 10% dos valores das concentrações sanguíneas do fármaco provenientes da administração de cada medicamento por voluntário.

Os detalhes e razões da retirada do voluntário do estudo serão anotados no Formulário de Relato de Caso - CRF (Seção de Término do Estudo).

O voluntário será considerado um "Término Prematuro" caso venha a ser retirado ou retirou-se do estudo antes da administração da medicação.

No caso do voluntário ser retirado ou retirar-se do estudo após a administração da medicação, este será considerado um "Drop Out".

Para ser preservado o N do estudo, os "Términos Prematuros" na 1ª fase do estudo poderão ser substituídos por voluntários *stand by*. Os voluntários *stand by* caracterizam-se por fazer parte da seleção e estarem aptos para participar do estudo. Entretanto, a participação ocorre em caso de Término Prematuro na 1ª fase. Os voluntários *stand by* serão ressarcidos no valor de R\$ 100,00 (Cem reais) caso não participem do estudo devido ao tempo e transporte dispendidos.

O voluntário que assinou o TCLE e foi substituído pelo voluntário *stand by*, fará parte do estudo e portanto manterá seu número e a documentação arquivada com os demais voluntários.

4.7. CRITÉRIOS PARA DESCONTINUAÇÃO DO VOLUNTÁRIO

Com o objetivo de garantir o bem estar dos voluntários, o estudo poderá ser interrompido caso, a juízo do Investigador Principal ou do Patrocinador, seja estabelecido que os riscos a que os voluntários estão sendo submetidos sejam superiores aos antecipadamente previstos ou mesmo, a qualquer momento pelo voluntário por decisão própria.

Além disso, os voluntários poderão ter sua participação no estudo encerrada antecipadamente em função dos "Critérios de Retirada" descritos no item 4.6 deste Protocolo.

5. EXECUÇÃO CLÍNICA DO ESTUDO

5.1. Definição Dos Períodos Do Estudo

O Período pré-estudo dura desde um máximo de 30 dias antes da primeira administração pretendida da droga em estudo até o período 1 do estudo. Engloba as avaliações feitas durante o exame pré-estudo e o instante anterior à assinatura do Termo de Consentimento Livre e esclarecido.

O Período 1 do estudo tem início com a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido dura até imediatamente antes da segunda administração pretendida da droga em estudo.

O Período 2 do estudo tem início com a segunda administração pretendida da droga e dura até a alta do voluntário no estudo.

5.2. EXAMES PRÉ E PÓS-ESTUDO

5.2.1 Exames pré-estudo

Os voluntários serão examinados antes da seleção, a fim de garantir que estejam clinicamente saudáveis. Os seguintes exames serão realizados durante os 30 dias anteriores à primeira administração da droga:

- Histórico do voluntário, inclusive histórico médico.
- Exame físico (inclusive ECG com 12 derivações, pressão sanguínea, temperatura corporal, frequência cardíaca, peso e altura.

Estudo: SPH29/08_Isoniazida

Documento: Protocolo

Versão: Final

Data: 30 de Setembro de 2008



- Exames laboratoriais (sangue, urina e teste de gravidez (β HCG) para as mulheres).
- Bem-estar geral e uso de medicação.
- Teste de hálito (se houver suspeita de abuso de álcool).

5.2.2. Exames pós-estudo

O exame pós-estudo é realizado para verificar se o voluntário não apresenta nenhum sintoma de doença ou dano à saúde. O exame pós-estudo será realizado dentro de 10 dias após a coleta da última amostra de sangue para análise farmacocinética do segundo período

- Exame físico (inclusive ECG com 12 derivações, pressão sanguínea, temperatura corporal, frequência cardíaca e peso).
- Exames laboratoriais sangue (incluindo β HCG nas mulheres) e urina, exceto sorologia.
- Bem estar geral e medicação concomitante.

Indivíduos que apresentem anormalidades subjetivas ou objetivas ao final do experimento serão alvo de acompanhamento. Qualquer EA que permaneça sem solução após o encerramento do experimento requer avaliação detalhada e acompanhamento até ser resolvido ou até que uma explicação razoável para sua persistência seja encontrada. Se o indivíduo recusar-se a seguir as instruções do Investigador, este estará liberado de responsabilidade.

Durante o exame pós-estudo, cada participante será orientado a não doar sangue por pelo menos 4 meses, nem participar, por um período mínimo de 6 meses após o estudo, de quaisquer estudos sobre drogas que impliquem na coleta de amostras de sangue.

6. LOCAL E FORMA DE CONFINAMENTO DOS VOLUNTÁRIOS

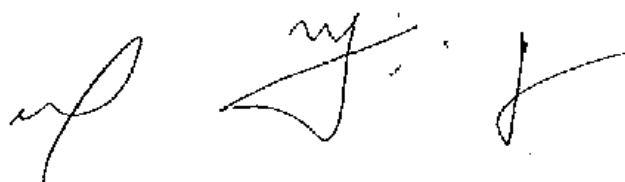
Os voluntários serão internados no Hospital Irmãos Penteado que possui uma unidade para ensaios clínicos com leitos e posto de enfermagem. A enfermagem dispõe de carrinho de emergência com desfibrilador, monitor, material para pequena cirurgia e medicação de emergência para qualquer eventualidade. Além disso, dispõe de uma Unidade de Terapia Intensiva (UTI). Sua estrutura laboratorial possui equipamentos para processamento e armazenamento de amostras biológicas.

Será solicitado ao voluntário que se apresente na sede da Synchrophar, situada à Rua Engenheiro Cândido Gomide, 38, Campinas, até as 17:00 horas na noite anterior de cada período do estudo. Será realizada uma reunião com os voluntários com o intuito de esclarecer dúvidas sobre o estudo, sobre as internações, coletas externas e restrições. Os voluntários receberão o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) para leitura. Em seguida, a enfermeira responsável lerá o TCLE para os voluntários, enfatizando os efeitos adversos que possam ocorrer e estimulando o voluntário a expor suas dúvidas. O médico estará disponível, no momento da assinatura do TCLE, caso o voluntário tenha dúvidas. Logo após, será realizada a verificação dos sinais vitais dos voluntários e depois

uma consulta médica. No momento da saída do voluntário será realizada uma vistoria dos pertences pessoais e separação destes não pertinentes à internação, com devolução ao final de cada internação. O grupo de voluntários então deve ser levado, sob responsabilidade e cuidados da Synchrophar, para internação no Hospital aproximadamente às 20:00 horas na noite anterior de cada período de tratamento, devendo permanecer na Unidade por 12 horas após a administração da medicação. Os voluntários terão assistência e cuidados especializados durante todos os períodos de tratamento, o que incluirá uma averiguação sumária de suas condições quando de seu confinamento e no momento da alta, de forma a possibilitar avaliar sua aderência aos quesitos deste protocolo.

7. CONDUTAS PERMITIDAS E NÃO PERMITIDAS ANTES E DURANTE O ESTUDO

- Durante as internações devem ser considerados os períodos de jejum, incluídas as restrições de líquidos. Também não é permitida a ingestão de qualquer outro alimento (incluindo doces, pastilhas, gomas, chicletes, pastilhas para garganta, salgadinhos ou biscoitos de qualquer tipo), além dos programados.
- Desde 24 horas antes da primeira coleta de sangue até o exame de acompanhamento, todos os esforços físicos tais como esportes e trabalho manual que exija muito esforço devem ser evitados.
- A ingestão de alimentos ou bebidas contendo álcool não é permitida a partir de 24 horas anteriores à primeira administração pretendida da droga em estudo até a última coleta de amostra de sangue para análise farmacocinética de cada período.
- Os voluntários devem jejuar pelo menos 08 horas antes da primeira coleta de sangue para medidas laboratoriais e pelo menos 08 horas antes de cada administração.
- A ingestão de produtos que contenham xantina (chocolate, chá preto e verde, café, bebidas de cola, goma de mascar, bebidas energéticas, etc.) não será permitida a partir de 12 horas anteriores à primeira administração pretendida da droga e até a última coleta de amostra de sangue para análise farmacocinética de cada período.
- A ingestão de alimentos ou bebidas que contenham pomelo, alimentos ou bebidas que contenham semente de papoula (pães, bolos e iogurtes com semente de papoula, etc.), a ingestão de couve de Bruxelas ou brócolis (conhecidos inibidores e indutores de CYP450), ameixa, framboesa e grape fruit não é permitida a partir de 7 dias antes da primeira administração pretendida da droga até a última coleta de amostra de sangue do último período.
- Reitera-se a proibição quanto ao uso de drogas e medicamentos, critérios de exclusão e desligamento do estudo.
- Caso, mesmo tomadas as devidas precauções, voluntárias do sexo feminino vierem a suspeitar de que engravidaram durante a participação no estudo, deverão imediatamente comunicar o ocorrido à equipe e deverão interromper sua participação. O fato deverá ficar devidamente documentado no Formulário de Relato de Caso (CRF).



A não observância destas restrições deve ser informada ao Investigador Principal, o qual irá decidir se será permitido que o voluntário permaneça no estudo. O fato e suas características deverão ser registrados no Formulário de Relato de Caso (CRF).

7.1. OUTRAS OBRIGAÇÕES E RESTRIÇÕES

- Os voluntários devem permanecer internados durante todo o tempo previsto (12 horas antes da administração do medicamento até 12 horas após), em cada internação. Devendo retornar à unidade ou ao hospital para coletas da amostra de sangue correspondente ao tempo de 24:00h após a administração da medicação;
- Voluntários devem retornar à Synchronphar a fim de se submeterem a um exame físico geral, eletrocardiograma e também para coleta de amostras (sangue e urina) para os testes laboratoriais. Esta obrigação é válida mesmo em caso de desistência do voluntário (a não ser que ele tenha desistido antes de tomar a medicação), já que está vinculada à avaliação de segurança do uso do medicamento;
- Os voluntários devem comunicar o não cumprimento de qualquer restrição mencionada.

7.2. HORÁRIOS DE JEJUM E DE ALIMENTAÇÃO

Ao chegar no Hospital Irmãos Penteados, os voluntários deverão fazer sua última refeição do dia. Após a sua entrada no hospital deverão permanecer em jejum a partir das 23:00 horas (pelo menos 08 horas de jejum) da noite da internação até 04 (quatro) horas após a ingestão da medicação, prevista para a manhã seguinte.

A fim de manter a padronização dos grupos de tratamento, a dieta (alimentos e líquidos) a ser oferecida obedecerá o mesmo padrão para todos os voluntários. Todos os alimentos e bebidas servidos devem ser ingeridos por completo. O cardápio é estipulado pela Synchronphar e a nutricionista do Hospital.

Alimentos (Tabela 5):

Períodos 1 e 2		
Tempo após administração	Refeição	Líquidos
-10:00 -- -12:00	Jantar	Permitido
00:00	Administração da medicação	
4:00 – 5:00	Almoço	Permitido
7:00 – 8:00	Lanche da Tarde	Permitido
10:00 – 12:00	Jantar	Permitido

Líquidos:

A ingestão de líquidos *ad libitum* (à vontade) será permitida até 06 (seis) horas antes da administração da droga. Água e líquidos (sem cafeína) serão permitidos *ad libitum* após 02 (duas) horas da administração da dose.

Estudo: SPH29/08_Isoniazida

Documento: Protocolo

Versão: Final

Data: 30 de Setembro de 2008

Estão especificamente programadas as seguintes ingestões de líquido:

- 200 mL de água mineral sem gás em temperatura ambiente junto com a medicação.

Jejum:

Os voluntários deverão permanecer em jejum a partir das 23:00 horas (pelo menos 08 horas de jejum antes da medicação) da noite da internação até 04 (quatro) horas após a ingestão da medicação.

Os voluntários não poderão tomar líquidos desde 06 (seis) horas pré-administração da medicação e até 02 (duas) horas após a ingestão da medicação, exceto nas ocasiões especificamente programadas.

7.3. CRONOGRAMA DE COLETA DAS AMOSTRAS

A coleta das amostras será feita através de cateter heparinizado introduzido em veia superficial do antebraço do voluntário. Após a coleta de cada amostra, o cateter será lavado com 1 mL de solução de heparina sódica em NaCl 0,9% estéril (10 UI/mL).

Após pelo menos 08 horas de jejum será feita uma coleta de sangue de 15 mL para controle individual e curvas padrões. A coleta pré-dose será realizada no máximo até 30 minutos antes da administração da medicação. E após a administração da medicação serão iniciadas as coletas de sangue para análise farmacocinética da droga. No total serão coletadas 32 amostras de 7,5 mL de sangue (16 em cada período do estudo) em tubos com Heparina. Um total de aproximadamente 300 mL de sangue será coletado durante os dois períodos do estudo, incluindo o volume coletado para os exames laboratoriais pré e pós estudo. Os tempos de coleta são mostrados na tabela abaixo.

Tabela 6: Atividades do estudo e tempos de coleta de amostras para análise farmacocinética:

Fase do Estudo	TEMPOS DE COLETA	Avaliação de Segurança		Volume Coletado	Volume Desprezado Após Centrifugação
				mL	mL (±)
Triagem				15	-
Períodos 1 e 2					
Internação	Dia	d			
Pool	Após 8 h de jejum	h		15	7,5
Pré-Dose	-00:30	h	PA, pulso, temperatura	7,5	3,75
	00:20	h		7,5	3,75
	00:40	h		7,5	3,75
	01:00	h		7,5	3,75
	01:20	h		7,5	3,75

Estudo: SPH29/08 Isoniazida

Documento: Protocolo

Versão: Final

Data: 30 de Setembro de 2008

	01:40	h		7,5	3,75
	02:00	h	PA, pulso, temperatura.	7,5	3,75
	02:30	h		7,5	3,75
	03:00	h		7,5	3,75
	03:30	h		7,5	3,75
	04:00	h		7,5	3,75
	05:00	h		7,5	3,75
	06:00	h	PA, pulso, temperatura.	7,5	3,75
	08:00	h		7,5	3,75
	12:00	h	PA, pulso, temperatura	7,5	3,75
	24:00	h		7,5	3,75
Pós Estudo				15	-

Totais do Estudo		270	135
Total Geral		300	135

Deverá ser registrado no CRF o tempo real absoluto de coleta da amostra de sangue usando-se um cronômetro com contagem iniciada no tempo 00:00h (administração da medicação). Também deverá ser registrado o tempo real absoluto da administração da medicação, para que se possa computar o intervalo real de tempo existente entre a administração da droga e as respectivas coletas. Eventuais perdas de coleta de amostras também deverão ser registradas. As amostras coletadas deverão permitir a identificação inequívoca do estudo, voluntário (código de identificação), período e horário de coleta. As amostras externas (coletas na Synchrophar ou no hospital) seguem o mesmo padrão, contudo, o relógio da Clínica é sincronizado com o do Hospital.

8. PROCESSAMENTO E ARMAZENAMENTO INICIAL DAS AMOSTRAS

Logo após a coleta (máximo de 45 minutos), as amostras de sangue serão centrifugadas em torno de 3.000 rpm (4°C) por 10 minutos. Imediatamente após a centrifugação, um mínimo de 1,5 mL de plasma, para cada amostra será transferido para o primeiro tubo criogênico de polipropileno e o plasma restante será transferido para um segundo tubo criogênico de polipropileno como uma amostra em duplicata. As amostras de plasma serão armazenadas em frascos adequadamente identificados, contando o SPII do estudo, número do voluntário, tempo de coleta e fase do estudo. Sua temperatura será de -20°C em freezer específico para armazenagem de amostras biológicas, localizado na própria Unidade. - POP EC pro 10 Processamento, Armazenamento, Transporte e envio das Amostras (anexo 09).

8.1. ARMAZENAMENTO E TRANSPORTE DAS AMOSTRAS

Após o término do período de estudo, os frascos identificados individualmente serão embalados por voluntário e por período do estudo.

O transporte das amostras para o Centro analítico será feito em recipientes adequados, com gelo seco e em temperatura monitorada.

Depois de completada a etapa Analítica, as amostras restantes ficarão sob a responsabilidade e os cuidados da Synchrophar, por até 03 meses após a entrega do Relatório Final ao patrocinador. Após esse período, as amostras de backup retornam para o Centro Analítico.

9. AVALIAÇÃO DE SEGURANÇA

Para fins de acompanhamento de segurança, os voluntários serão observados durante o estudo visando a detecção de eventos adversos.

Um *Evento Adverso* é qualquer ocorrência médica não desejada em um sujeito que esteja participando de uma investigação clínica e que já tenha recebido alguma das *terapias* vinculadas à investigação. Esta ocorrência não necessita ter uma relação causal com a *terapia*. Um *Evento Adverso* pode portanto ser um sinal (incluindo achados anormais de exames ou sinais vitais) ou sintoma desfavorável e não intencional, ou uma doença temporalmente associada à *terapia*, relacionada ou não à *terapia*.

Um *Evento Adverso Sério* é um *Evento Adverso* que, independente de dose:

- Provoca a morte;
- Ameaça a vida;
- Requer hospitalização ou prorrogação da hospitalização;
- Resulta em debilidade / incapacitação significativa ou persistente;
- Trata-se de uma anomalia congênita ou defeito ao nascimento que não tinha sido diagnosticada.

A "ameaça à vida" refere-se a condições que efetivamente encontradas no momento da ocorrência do evento ou que requeiram, também no momento do evento, intervenção para prevenir que haja "ameaça à vida"; não se refere à possibilidade de "ameaça à vida" caso o evento fosse mais intenso.

Se define como hospitalização a admissão em um centro hospitalar, mesmo que seja por um período inferior a 24 horas. Excluem-se as admissões a) para tratar de uma condição pré-existente que esteja documentada na história clínica e que tenham sido planejadas anteriormente ao estudo; b) devido a problemas sociais; c) contempladas no protocolo como parte dos procedimentos do estudo; d) eletivas (cirurgia estética).

Além da comunicação de eventos pelo voluntário ou simples observação, o Investigador deverá registrar e avaliar as seguintes variáveis, visando a detecção de eventos adversos:

- Sinais vitais dos voluntários (FC, PA e temperatura) obtidos durante as internações;
- Resultados dos exames laboratoriais (hematologia, bioquímica e análise de urina) e eletrocardiograma, obtidos ao final do estudo e avaliados de forma comparativa àqueles obtidos na fase de seleção dos voluntários.
- Achados de exame físico, obtidos ao final do estudo e avaliados de forma comparativa àqueles obtidos na fase de seleção dos voluntários.

Estudo: SPH029/08_Isoniazida

Documento: Protocolo

Versão: Final

Data: 30 de Setembro de 2008

9.1. REGISTRO E ANÁLISE DOS PARÂMETROS DE SEGURANÇA

Procedimentos durante o estudo:

Nos dias de administração da medicação, em cada período de tratamento, os voluntários permanecerão internados durante as horas subseqüentes à administração dos medicamentos e serão observados pelos profissionais de saúde durante todo o estudo visando a detecção de eventos adversos incluindo sinais de toxicidade.

Os voluntários deverão estar instruídos sobre os efeitos adversos em potencial, bem como sobre a necessidade de comunicá-los imediatamente ao Investigador ou sua equipe. Quaisquer eventos adversos que ocorram após o período sob supervisão médica direta deverão ser imediatamente comunicados à equipe, por telefone.

Serão monitoradas, por ocasião das coletas de sangue, a frequência cardíaca e pressão arterial do voluntário. A temperatura corpórea também será acompanhada a partir da administração da medicação, de acordo com a tabela de atividades do estudo (tabela 06).

Um médico da equipe estará disponível durante todo o período do estudo.

Procedimentos pós estudo:

Na alta da última internação, todos os voluntários serão novamente avisados de que não devem doar sangue por pelo menos 4 meses ou participar de qualquer estudo clínico com medicamentos que envolva a coleta de amostra por pelo menos 6 meses.

Todos os voluntários, inclusive os que desistiram da participação no estudo após a administração de pelo menos uma dose de um dos medicamentos, deverão ser reavaliados clinicamente (incluindo sinais vitais, exame físico e ECG) e por exames laboratoriais subsidiários iguais aos realizados na fase pré-estudo (executando-se testes sorológicos).

Esta reavaliação deverá ocorrer até 10 dias após a última coleta de sangue. Independentemente de alteração, todos os resultados obtidos devem ser relatados nos CRF individuais correspondentes.

A negativa ou o não comparecimento do voluntário para a realização destes procedimentos, deverá ser devidamente documentada.

9.2. PROCEDIMENTOS PARA REGISTRAR E COMUNICAR EVENTOS ADVERSOS E DOENÇAS INTERCORRENTES

As perguntas realizadas para saber se o voluntário teve algum evento adverso deverão ser limitadas a perguntas gerais, tais como: "Como vai você?"

Será solicitado aos voluntários que relatem qualquer evento adverso e quando isto ocorreu. Será também solicitado que notifique ao Investigador se foi necessário usar medicação adicional.

Qualquer evento adverso deverá ser registrado em detalhes na(s) folhas(s) apropriada(s) para relato de eventos adversos, integrante do Formulário de Relato de Caso (CRF). Os detalhes incluem a descrição do evento utilizando terminologia médica precisa, informação sobre a o momento em que começou, sua duração e as ações médicas tomadas para afastar o evento

adverso, bem como informações sobre o desfecho e qualquer outro dado adicional que a julgo do Investigador possa ser relevante.

Devem ser empreendidos todos os esforços pelo Investigador Principal para explicar cada experiência adversa e avaliar sua relação, se houver, com o medicamento do estudo.

O Investigador Principal é responsável por documentar todos os eventos adversos que ocorram durante o estudo e comunicar oportunamente estes eventos ao patrocinador. O Investigador Principal é responsável pela notificação dos Eventos Adversos Sérios à pessoa indicada pelo patrocinador para tomar conta dos relatórios de Eventos Adversos Sérios. Todos os casos de emergência deverão também ser imediatamente comunicados aos monitores.

Para questionamentos sobre Eventos Relacionados ao Sistema Digestório, deve-se preencher o Anexo 06.

Tabela 07- Questionamento de EAs e Eventos Relacionados ao Sistema Digestório

Tempo (hh:mm)	Questionamento de Eventos Relacionados ao Sistema Digestório
-00:30	
00:20	
00:40	
01:00	
01:20	
01:40	
02:00	X
02:30	
03:00	
03:30	
04:00	
05:00	
06:00	
08:00	
12:00	
24:00	

9.3. ACOMPANHAMENTO DOS VOLUNTÁRIOS APÓS EVENTOS ADVERSOS

É de responsabilidade do Investigador garantir que os voluntários envolvidos recbam um tratamento definitivo para qualquer evento adverso, se necessário. Os eventos deverão ser seguidos clinicamente e por análises laboratoriais (quando indicados) até que os parâmetros voltem ao normal. Estas atividades podem permanecer mesmo após o estudo ter sido completado.

A equipe da Unidade Clínica deverá monitorar a segurança dos voluntários desde a ocorrência de um Evento Adverso até a recuperação satisfatória. Portanto, podem ser necessárias visitas de retorno e testes laboratoriais (quando apropriado), mesmo depois que o estudo tenha sido completado e que tenha ocorrido a alta da Unidade Clínica.

Estudo: SPH29/08 Isoniazida

Documento: Protocolo

Versão: Final

Data: 30 de Setembro de 2008

Em casos de emergência a unidade de internação tem local próprio, equipado com desfibrilador, monitor, material para pequena cirurgia e com medicação de urgência para qualquer eventualidade. Além disso, contam com Unidade de Terapia Intensiva (UTI).

Medidas em caso de Eventos Adversos e SSPT sérios

EASSs devem ser documentados em detalhe no formulário de EA além da documentação regular no CRF.

A Synchrophar vai fornecer relatórios de EASSs ao patrocinador dentro de no máximo 24 horas após seu início.

O Comitê de Ética em Pesquisa deve ser informado sobre a ocorrência de EA sérios até 48 horas após seu início. Telefone CEP (19) 3521-8941 .

Uma notificação do EA Sério deve ser enviada aos setores de Farmacovigilância - Unidade de Farmacovigilância - NUVIG/ANVISA, e à Coordenação de Inspeção em Centros de Equivalência Farmacêutica e Bioequivalência - CIBIO/GGMED/ANVISA no prazo de 48 horas após seu início. Telefone ANVISA 55 (61) 3562-5562.

EASSs que, segundo o conhecimento atual, possam ser causados pela droga em estudo requerem avaliação médica imediata. A decisão da finalização do estudo completo será tomada na base desta avaliação e segundo o *ICH Guideline for Clinical Safety Data Management: Definitions and Standards for Expedited reporting* e pelos requisitos legais dos países envolvidos.

O Comitê de Ética apropriado deve ser informado caso os EAs

- sejam sérios e relacionados, ou
- sejam inesperados e possam prejudicar a segurança dos participantes ou a condução do estudo.

O patrocinador deve expedir relatórios de todos os EAs sérios, suspeitos ou inesperados a todos os Investigadores/instituições relacionados e às autoridades regulatórias. O envio de relatórios deve obedecer aos requerimentos regulatórios descritos pela ANVISA via fax (55-61-3448-1275) e os procedimentos descritos pelo *ICH Guideline for Clinical Safety Data Management: Definitions and Standards for Expedited Reporting*.

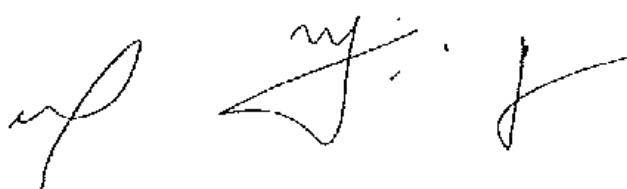
9.4. PROCEDIMENTOS PARA MONITORAR A ADESÃO DO VOLUNTÁRIO AO PROTOCOLO

Adesão à Terapia:

Os medicamentos sob investigação (e outras terapias) serão administrados na presença de um médico responsável pelo plantão da Synchrophar. O administrador deverá examinar a boca de cada voluntário após ingestão do medicamento.

Adesão a outras condições / restrições:

A adesão às restrições quanto ao uso de medicamentos, limitações dietéticas e demais restrições definidas no Protocolo serão investigadas inicialmente através de questionamento ou observação direta por parte do Investigador e equipe participante da etapa clínica do estudo no momento da internação ou antes da administração do medicamento, e por observação direta durante o período de internação.



Deverá ser especificamente investigado (por ocasião da primeira ou demais internações) se o voluntário:

- Fez uso de qualquer medicamento durante os 14 dias que precederam a internação ou durante o intervalo entre as internações;
- Foi hospitalizado dentro de 8 semanas que antecederam o estudo;
- Por qualquer motivo, doou ou perdeu sangue dentro dos 4 meses que antecederam ao estudo;
- Suspeita de estar ou se encontra grávida;
- Estar amamentando;
- Fez uso de caféina ou produtos que contenham xantina (chocolate, chá, café, colas, etc.) nas 12 horas anteriores a administração pretendida da medicação até a última coleta de sangue;
- Fez uso de álcool 24 horas anteriores à primeira administração pretendida até a última coleta de sangue;
- Fez uso de drogas psicotrópicas durante os 14 dias que precederam a internação ou durante o intervalo entre as internações;
- Fez algum exercício físico intenso nas 24 horas anteriores a primeira coleta de sangue até o exame de acompanhamento;
- Deixou de cumprir com as restrições de jejum estabelecidas.

Se houver qualquer dúvida sobre o uso de álcool, poderá ser feito um teste para detecção de álcool, a juízo do Investigador.

10. RISCOS RELACIONADOS COM A PARTICIPAÇÃO DO ESTUDO

10.1 RISCOS RELATIVOS AO PROCEDIMENTO

O uso de uma cânula interna para fins de amostragem de sangue pode ser acompanhado por leve contusão e também, em raros casos, por inflamação passageira da parede da veia. Após a irritação inicial, a presença de uma cânula interna é, em geral, indolor e praticamente não é notada. O mesmo se aplica à punção da veia para amostragem de sangue posterior.

O volume total de sangue retirado durante todo o estudo será de aproximadamente 300 mL (240 mL para caracterização farmacocinética + 30 mL para exames pré-estudo e pós-estudo + 15 mL de pool para cada período) dentro de, aproximadamente, 4 semanas. Não é esperado nenhum risco relativo à segurança, devido a essa retirada de sangue.

10.2 RISCOS RELATIVOS ÀS DROGAS EM INVESTIGAÇÃO

Os riscos relativos à droga em investigação são: anemias, agranulocitose, trombocitopenia e eosinofilia. Menos de 1% dos pacientes apresentam reações cutâneas, incluindo urticária, púrpura, lúpus heritematoso e dermatite exfoliativa.

Neuropatia periférica é o efeito tóxico mais comum. Outros efeitos neurotóxicos incomum com doses convencionais são: convulsões, encefalopatia tóxica, neurite, prejuízo de memória, e psicose tóxica.

Efeitos hepáticos como elevação das Transaminases (SGOT; SGPT), bilirrubinemia, bilirrubinúria, icterícia ocasionalmente severo e às vezes hepatite fatal. Também foram relatadas agranulocitose, eosinofilia, trombocitopenia, anemia hemolítica, sideroblástica, ou aplástica.

Outros efeitos adversos incluem: náuseas, vômito, boca seca, constipação, febre, vertigem, vasculite, hiperreflexia, retenção de urina e ginecomastia.

Medidas especiais de precaução não são consideradas como necessárias para este estudo. Em caso de emergência, procedimentos padrão de emergência serão empregados. O Investigador Principal deverá ser imediatamente consultado e informado.

O Investigador Principal providenciará todo o equipamento de emergência necessário e pessoal especialmente treinado para lidar com eventos de emergência durante este estudo. Todos os casos de emergência (i.e. ocorrência de EAS e/ou aumento do número de EAs, o que pode resultar numa relação inaceitável da relação de risco-benefício) devem ser relatados imediatamente ao Investigador Principal e serão anotados no CRF.

11. IDENTIFICAÇÃO DOS DADOS A SEREM REGISTRADOS DIRETAMENTE NO FORMULÁRIO DE RELATO DE CASO (CRF)

Os seguintes dados serão registrados diretamente no CRF, sendo este a fonte de dados brutos:

- Exame físico, incluindo a história médica;
- Dados antropométricos;
- Sinais Vitais;
- Uso de medicamentos pré ou concomitantemente ao tratamento;
- Administração dos produtos sob investigação e respectivos horários;
- Controle dietético e ingestão de líquidos;
- Horários de coleta das amostras de sangue;
- Registro de Eventos Adversos e Eventos Adversos Sérios.

Nos CRF cada voluntário será identificado pela inicial do primeiro nome, inicial do sobrenome, data de nascimento seguido de F (para feminino) ou M (para masculino).

Exemplo: José Roberto Silveira, DN 20/04/1965 - JS200465M

Esta identificação deverá constar em cada página do CRF do respectivo voluntário.

11.1. TRATAMENTO DE DOCUMENTAÇÃO DE DADOS CLÍNICOS

A inserção de dados clínicos nos documentos fonte deve ser feita com caneta esferográfica de tinta preta e devem ser legíveis. Não serão usados lápis e líquidos para correção. Caso sejam necessárias correções, elas serão inscritas por um participante da equipe de estudo da seguinte maneira: a informação errada será riscada, devendo, no entanto, permanecer legível e a informação correta será colocada no campo de correções (se aplicável) ou ao lado da

Estudo: SPH29/08, Isoniazida

Documento: Protocolo

Versão: Final

Data: 30 de Setembro de 2008

informação incorreta. Correções serão rubricadas e datadas. Para correções relativas á EAs ou a uma variável primária, deverá ser fornecida uma razão. Para os propósitos de controle de qualidade, o Investigador Principal fará um controle dos dados nos arquivos de dados fonte para correção formal, completitude e entendimento das entradas.

Para fins de controle de qualidade, o Investigador verificará os dados dos documentos fontes quanto à exatidão formal, integridade e legibilidade das inserções. Em seguida, o documento fonte em português será bloqueado, de modo que inserções e / ou correções subseqüentes possam ser identificadas.

Ao final da Etapa Clínica os dados dos documentos fontes serão inseridos no Software SCPDM.

12. ÉTICA

12.1. COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

O projeto de pesquisa, com o protocolo experimental e o termo de consentimento, serão submetidos ao Comitê de Ética em Pesquisa da UNICAMP - credenciado pelo CONEP - Conselho Nacional de Saúde/MS.

O ensaio não será iniciado antes que exista um Protocolo escrito e aprovado pelo Comitê de Ética. O Investigador será responsável por obter aprovação do Protocolo de Estudo pelo Comitê de Ética. Uma cópia da aprovação deverá ser enviada ao patrocinador, antes do início do estudo.

Se eventuais emendas ao Protocolo alterarem o risco potencial de segurança dos voluntários do ensaio (tais como mudança no regime de dosagem, amostras adicionais de sangue), será necessário submetê-las à aprovação por escrito pelo comitê. As emendas só poderão ser implementadas após sua aprovação pelo CEP, o que poderá implicar a interrupção temporária do estudo. Deverá ser fornecida ao patrocinador uma cópia da carta de aprovação cobrindo tais alterações.

12.2. CONDUTA DO ESTUDO

O Estudo será conduzido de acordo com:

- Declaração de Helsinki.
- ICH Topic E 6: Note for Guidance on Good Clinical Practice (CPMP/ICH/135/95), Julho 2002.
- ICH Topic E 3: Note for Guidance on Structure and Content of Clinical Study Reports, Step 4 (CPMP/ICH/137/95).
- GMP regulation, Annex 13, Julho 2003.
- Note for Guidance on Non-Clinical Safety Studies for the Conduct of Human Clinical Trials for Pharmaceuticals (CPMP/ICH/286/95, modification), Novembro 2000.
- Note for Guidance on the Investigation of Bioavailability and Bioequivalence (CPMP/EWP/QWP/1401/98).
- Resolução 196/96 – Pesquisas Envolvendo Seres Humanos, ANVISA, Ministério da Saúde, Brasil (RES 196/96/MS/CNS).

Estudo: SPH29/08_Isoniazida

Documento: Protocolo

Versão: Final

Data: 30 de Setembro de 2008

- Resolução 251/97 – ANVISA, Ministério da Saúde, Brasil (RES 251/97/MS/CNS)
- Resolução 1170/06 – Anvisa, Ministério da Saúde, Brasil (RES 1170/06/MS/CNS).
- Guidance for Industry, Bioanalytical Method Validation, U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research (CDER), Center for Veterinary Medicine (CVM), Maio de 2001.

12.3 TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Os voluntários receberão uma explanação da natureza e dos objetivos do estudo. Será enfatizado que o estudo tem a finalidade de pesquisa, e que o voluntário não poderá esperar que haja qualquer efeito terapêutico. O voluntário também entenderá que ele/ela é livre para se retirar a qualquer momento do estudo sem ser obrigado a fornecer o motivo de fazê-lo e sem que isto cause qualquer prejuízo no seu atendimento junto a Synchrophar.

A participação dos voluntários nas atividades de recrutamento e seleção será acompanhada de autorização prévia conforme o Termo de Recrutamento anexo. Uma vez aprovada a participação do voluntário no estudo, será solicitado a cada voluntário que, caso concorde, assine o Termo de Consentimento para participar no estudo, antes da admissão no primeiro período de tratamento. A obtenção da assinatura do Termo de Consentimento, será realizada por um profissional qualificado, que tenha conhecimento amplo do protocolo.

Se, a juízo do Investigador Principal, uma emenda ao Protocolo alterar substancialmente o desenho do estudo ou o risco a que os voluntários estão submetidos, os voluntários serão informados e deverão assinar um novo consentimento relativo à decisão de continuar a participar no estudo.

12.4 CONFIDENCIALIDADE

Os resultados do exame médico e testes laboratoriais serão registrados no Formulário de Relato de Caso (CRI¹) de cada voluntário. Toda a informação obtida durante o estudo referente ao estado de saúde do voluntário estará disponível aos médicos da unidade de internação, cuja obrigatoriedade de manutenção do sigilo é inerente a sua função. Uma cópia dos exames laboratoriais realizados no pré e pós-estudo será fornecida aos voluntários, caso seja solicitado.

12.5 RESSARCIMENTO

Os voluntários serão ressarcidos no valor de R\$ 440,00 (Quatrocentos e quarenta reais) relativo às despesas e tempo despendidos durante o estudo. A desistência ou dispensa do voluntário antes do comparecimento para a primeira internação não dá direito a ressarcimento. Caso o voluntário desista em uma das internações e/ou não compareça as coletas externas, será excluído do estudo e o ressarcimento não será efetuado (Resolução 1170 item 3.1.3). Caso o voluntário seja dispensado antes do estudo ser finalizado, receberá no final do estudo, o valor proporcional ao tempo despendido. O ressarcimento será efetuado após a consulta de alta. Caso o voluntário não compareça no dia da alta, será

realizado 03 contatos. Se o mesmo não comparecer nas datas agendadas, o processo será finalizado, e o ressarcimento cancelado.

A participação do voluntário no processo de seleção, independente de aprovação ou concordância em participação, não será ressarcida.

12.6 FINANCIAMENTO E SEGURO

Durante um período de 06 meses, a partir da data de início do estudo clínico, os voluntários estarão sob cobertura de um Seguro de Vida em Grupo da Mongeral S/A Seguros e Previdência, para casos de morte, invalidez permanente e acidentes relacionados ou não ao ensaio clínico.

Os acordos financeiros relativos ao estudo são fornecidos em separado.

12.7 MANUSEIO DOS DADOS E MANUTENÇÃO DOS REGISTROS

O Investigador deve manter todos os documentos relacionados com este estudo pelo tempo definido nas diretrizes da e ICH-GCP. Todos os dados e documentos devem estar disponíveis caso seja solicitado pelo patrocinador ou autoridades. Os documentos serão conservados por um período mínimo de 15 (quinze) anos.

Antes da remoção ou destruição dos documentos deste estudo, o Investigador deve informar ao Patrocinador, por escrito, sob suas intenções. Somente após obter uma permissão por escrito é que o Investigador poderá remover ou destruir os documentos do estudo.

O Patrocinador deve também manter todos os documentos relacionados ao estudo, por um período de pelo menos 15 (quinze) anos ou durante o tempo em que o medicamento encontrar-se no mercado.

13. ETAPA ANALÍTICA E AVALIAÇÃO FARMACOCINÉTICA

13.1 DETERMINAÇÃO DO PERFIL FARMACOCINÉTICO DA DROGA

Para fins de avaliação do perfil farmacocinético, além da quantificação da concentração plasmática do fármaco inalterado, é essencial o registro, durante os períodos de tratamento, do intervalo de tempo entre a coleta da amostra e a administração da droga ao voluntário. Para tanto deverão ser registrados para cada voluntário os horários reais de administração das drogas e o horário de coleta de cada amostra, identificando-se também o período do estudo a que se refere.

13.2 MÉTODOS DE OBTENÇÃO E REGISTRO DO MATERIAL PARA QUANTIFICAÇÃO DA DROGA

A definição do número e intervalo de obtenção das amostras para construção das curvas concentração *versus* tempo é função do perfil farmacocinético da droga, com base na informação de literatura, visando permitir o cálculo dos parâmetros farmacocinéticos

estipulados no item 15.1 deste protocolo. Para tanto, o tempo de coleta das amostras deverá estender-se por um prazo no mínimo 3 vezes superior à $\frac{1}{2}$ vida da droga.

A definição do volume de sangue a ser coletado depende fundamentalmente das características impostas pelo método analítico a ser empregado, características de estabilidade da droga, bem como os aspectos regulamentares relacionadas à avaliação proposta.

14. MÉTODO ANALÍTICO E VALIDAÇÃO

As concentrações plasmáticas do Isoniazida serão dosadas por método analítico específico e validado, baseado na aplicação da cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massas (LC/MS/MS). O relatório de validação do método, bem como sua descrição serão fornecidos por ocasião da conclusão do estudo.

14.1 VALIDAÇÃO PRÉ-ESTUDO

Especificidade

Deve-se analisar amostras da matriz biológica obtidas de seis indivíduos, sendo quatro amostras normais, uma lipêmica e uma hemolisada, sob condições controladas referentes ao tempo, alimentação e outros fatores importantes para o estudo. Cada amostra branco deve ser testada utilizando o procedimento e as condições cromatográficas propostas. Os resultados devem ser comparados com aqueles obtidos com solução aquosa do analito, em concentração próxima ao LIQ.

Qualquer amostra branca que apresentar interferência significativa no tempo de retenção do fármaco, metabólito ou padrão interno, deve ser rejeitada. Caso uma ou mais das amostras analisadas apresentarem tal interferência, novas amostras de outros seis indivíduos devem ser testadas. Caso uma ou mais das amostras deste grupo apresentarem interferência significativa no tempo de retenção do fármaco, o método deve ser alterado visando eliminá-la.

Os interferentes podem ser componentes da matriz biológica, metabólitos, produtos de decomposição e medicamentos utilizados concomitantemente ao estudo. A interferência da nicotina, cafeína, produtos de venda isenta de prescrição e metabólitos deve ser considerada sempre que necessário.

Caso o método seja destinado à quantificação de mais de um fármaco, cada um deve ser injetado separadamente para determinar os tempos de retenção individuais e assegurar que impurezas de um fármaco não interfiram na análise do outro.

A resposta de picos interferentes no tempo de retenção do fármaco deve ser inferior a 20% da resposta do LIQ. As respostas de picos interferentes no tempo de retenção do fármaco e do padrão interno devem ser inferiores, respectivamente, a 20% e 5% da resposta na concentração utilizada.



Curva de calibração/linearidade

A curva de calibração representa a relação entre a resposta do instrumento e a concentração conhecida do analito. Deve-se gerar uma curva de calibração para cada fármaco e corrida analítica, a qual será usada para calcular a concentração do fármaco nas amostras, utilizando-se a mesma matriz biológica proposta para o estudo. A curva de calibração deve incluir a análise da amostra branco (matriz biológica isenta de padrão do fármaco e do padrão interno), da amostra zero (matriz biológica mais o padrão interno) e de, no mínimo, 6 (seis) amostras contendo padrão do fármaco e padrão interno, contemplando o limite de variação esperado, do LIQ até 120% da concentração mais alta que se pretende analisar.

Para a determinação da curva de calibração, deve-se analisar amostras extraídas da matriz apropriada, no mínimo 6 (seis) concentrações diferentes. Procedimentos alternativos devem ser justificados, como na obtenção de uma correlação não-linear, em que um maior número de concentrações de padrões serão necessários.

Os resultados devem ser analisados por métodos estatísticos apropriados como, por exemplo, o cálculo de regressão linear pelo método dos mínimos quadrados. Deve-se apresentar as curvas obtidas (experimental e a resultante do tratamento matemático), o coeficiente de correlação linear, o coeficiente angular e o intercepto da reta.

Critérios de aceitação da curva de calibração:

- Desvio menor ou igual a 20% (vinte por cento) em relação à concentração nominal para o LIQ;
- Desvio menor ou igual a 15 % (quinze por cento) em relação à concentração nominal para as outras concentrações da curva de calibração;
- No mínimo quatro de seis concentrações da curva de calibração devem cumprir com os critérios anteriores, incluindo o LIQ e a maior concentração da curva de calibração;
- O coeficiente de correlação linear deve ser igual ou superior a 0,98.

Precisão

A repetibilidade do método é verificada utilizando-se, no mínimo, 3 (três) concentrações (baixa, média e alta), contemplando a faixa de variação do procedimento, realizando-se, no mínimo, 5 (cinco) determinações por concentração.

A precisão deve ser determinada em uma mesma corrida (precisão intra-corrída) e em corridas diferentes (precisão inter-corrídas).

Pode ser expressa como desvio padrão relativo (DPR) ou coeficiente de variação (CV%), não se admitindo valores superiores a 15%, exceto para o LIQ, para o qual se admite valores menores ou iguais a 20%, segundo a fórmula:

$$DPR = \frac{DP}{CMD} \times 100$$

Onde, D P é o desvio padrão e C M D, a concentração média determinada.

Exatidão

A exatidão do método deve ser determinada utilizando-se, no mínimo, 3 (três) concentrações (baixa, média e alta), contemplando a faixa de variação do procedimento, realizando-se, no mínimo, 5 (cinco) determinações por concentração.

A exatidão deve ser determinada em uma mesma corrida analítica (exatidão intra-corrída) e em corridas diferentes (exatidão inter-corrídas).

O desvio não deve exceder 15%, exceto para o limite de quantificação, para o qual se admite desvios menores ou iguais a 20%.

A exatidão é expressa pela relação entre a concentração média determinada experimentalmente e a concentração teórica correspondente:

$$\text{Exatidão} = \frac{\text{Concentração média experimental}}{\text{Concentração teórica}} \times 100$$

Limite inferior de quantificação (LIQ)

Estabelecido por meio da análise de matriz biológica contendo concentrações decrescentes do fármaco até o menor nível quantificável com precisão e exatidão aceitáveis.

Pode-se, também, utilizar a razão de 5:1 entre o sinal e o ruído da linha de base, devendo-se especificar o método utilizado para determinação do LIQ.

O LIQ deve ser, no mínimo, cinco vezes superior a qualquer interferência da amostra branco no tempo de retenção do fármaco.

O pico de resposta do fármaco no LIQ deve ser identificável e reproduzível com precisão de 20% (vinte por cento) e exatidão de 80 - 120 % (oitenta a cento e vinte por cento), através da análise de, no mínimo, 5 (cinco) amostras de padrões.

Limite de detecção (LD)



Estabelecido por meio da análise de soluções de concentrações conhecidas e decrescentes do fármaco, até o menor nível detectável. Recomenda-se que o L.D seja de 2 a 3 vezes superior ao ruído da linha de base.

Recuperação

A recuperação mede a eficiência do procedimento de extração de um método analítico dentro de um limite de variação. Porcentagens de recuperação do analito e do padrão interno próximos a 100% são desejáveis, porém, admite-se valores menores, desde que a recuperação seja precisa e exata.

Este teste deve ser realizado comparando-se os resultados analíticos de amostras extraídas a partir de três concentrações (baixa, média e alta), contemplando a faixa de linearidade do método, com os resultados obtidos com soluções padrão não extraídas, que representam 100% de recuperação.

O cálculo da recuperação deve ser feito em função da relação de área do padrão extraído e não extraído, tanto para o analito quanto para o padrão interno separadamente.

Controle de qualidade (CQ)

CQ do limite inferior de quantificação (CQ-LIQ): mesma concentração de LIQ.

- CQ de baixa concentração (CQB): menor ou igual 3 x LIQ.
- CQ de média concentração (CQM): aproximadamente a média entre CQB e CQA
- CQ de alta concentração (CQA): 75 a 90% da maior concentração da curva de calibração.

Estudo de estabilidade do fármaco em líquidos biológicos:

Para considerações específicas relevantes à realização do estudo de estabilidade devem ser observados os parâmetros de exatidão, precisão, linearidade, limite de detecção, limite de quantificação, especificidade, limite de variação e robustez, previamente validados. A estabilidade do fármaco em líquidos biológicos depende de suas propriedades químicas, da matriz biológica e do material de acondicionamento utilizado. A estabilidade determinada para um tipo de matriz e de material de acondicionamento específico não pode ser extrapolada para outros.

As condições de realização dos ensaios de estabilidade devem reproduzir as reais condições de manuseio e análise das amostras. Deve ser avaliada a estabilidade do analito durante a coleta e manuseio da amostra, após armazenagem de longa duração (congelamento) e curta duração (à temperatura ambiente), após ciclos de congelamento e descongelamento e nas condições de análise. Deve-se incluir também avaliação da estabilidade do analito nas soluções-padrão, preparadas com solvente apropriado em concentrações conhecidas. As determinações de estabilidade devem utilizar um conjunto de amostras, preparadas a partir



de uma solução estoque recente do fármaco em análise, adicionado à matriz biológica isenta de interferência.

Estabilidade após ciclos de congelamento e descongelamento

Deve-se testar a estabilidade do fármaco após três ciclos de congelamento e descongelamento, utilizando-se, no mínimo, três amostras das concentrações baixa e alta determinadas na validação do método analítico, nas seguintes condições: as amostras devem ser congeladas à temperatura indicada para o armazenamento e mantidas por 24 horas, sendo então submetidas ao descongelamento à temperatura ambiente. Quando completamente descongeladas, as amostras devem ser novamente congeladas à temperatura indicada para o armazenamento, por 12 a 24 horas e, assim sucessivamente, até contemplar os três ciclos, quantificando-se o fármaco nas amostras após o terceiro ciclo. Os resultados devem ser comparados com aqueles obtidos da análise das amostras recém-preparadas.

Estabilidade de curta duração

Para verificação dessa estabilidade utilizam-se, no mínimo, três amostras das concentrações baixas e altas determinadas na validação do método analítico. Cada uma delas deverá permanecer à temperatura ambiente de 4 (quatro) a 24 (vinte e quatro) horas (baseado no tempo em que as amostras do estudo serão mantidas à temperatura ambiente) e analisadas. Os resultados devem ser comparados com aqueles obtidos da análise das amostras recém-preparadas.

Estabilidade de longa duração

O tempo de armazenamento para o estudo de estabilidade de longa duração deve exceder o intervalo de tempo compreendido entre a coleta da primeira amostra e a análise da última, de acordo com o cronograma apresentado no protocolo de estudo de biodisponibilidade relativa/bioequivalência.

A temperatura utilizada no ensaio deve reproduzir a recomendada para armazenamento das amostras, normalmente igual a -20 °C.

Para verificação dessa estabilidade utilizam-se, no mínimo, três amostras das concentrações baixas e altas determinadas na validação do método analítico. As concentrações de todas as amostras de estabilidade devem ser comparadas com a média dos valores anteriormente calculados para as amostras do primeiro dia do teste.

Estabilidade pós-processamento

Em caso de utilização de equipamentos que empregam sistemas automáticos de amostragem/injeção, deve-se realizar estudo de estabilidade do fármaco, na amostra processada para análise, incluindo o adrião interno, na temperatura sob a qual o teste será realizado e por período de tempo superior à duração da corrida analítica. Utiliza-se, no mínimo, três amostras das concentrações baixa e alta determinadas na validação do método analítico. Os resultados devem ser comparados com aqueles obtidos da análise das amostras recém-preparadas.

Estudo: SPH29/08_Isoniazida

Documento: Protocolo

Versão: Final

Data: 30 de Setembro de 2008



Estabilidade das soluções-padrão

Deve ser avaliada a estabilidade das soluções-padrão do fármaco e do padrão interno, mantidas à temperatura ambiente por, no mínimo, 6 (seis) horas após preparação.

Em caso de tais soluções serem armazenadas sob refrigeração ou congelamento, a estabilidade também deve ser avaliada, contemplando a temperatura e o período de armazenamento das mesmas.

Os resultados desse teste devem ser comparados com aqueles obtidos utilizando-se soluções recentemente preparadas do fármaco e do padrão interno.

Análise dos resultados As amostras serão consideradas estáveis quando não se observar desvio superior a 15% do valor obtido das amostras recém-preparadas, com exceção do LIQ, para o qual se aceita desvio de até 20%. Qualquer que seja o método estatístico utilizado para avaliar os resultados dos estudos de estabilidade, este deverá estar descrito claramente no procedimento operacional padrão (POP).

Crítérios de aplicação do método bioanalítico validado

A análise de todas as amostras de um analito em matriz biológica deve ser concluída dentro do período de tempo para o qual a estabilidade tenha sido determinada.

Uma corrida analítica deve conter: amostras de CQ, padrões de calibração e amostras desconhecidas de um ou mais voluntários do estudo. É preferível que todas as amostras de um mesmo voluntário sejam analisadas numa única corrida.

Não é permitido estimar a concentração das amostras através de extrapolação da curva de calibração abaixo do LIQ ou acima do maior padrão. Em vez disso, a curva deve ser redefinida ou as amostras de concentrações superiores devem ser diluídas e reanalisadas.

No uso rotineiro do método analítico validado, sua precisão e exatidão devem ser monitoradas regularmente para assegurar a continuidade do desempenho satisfatório. Para atingir este objetivo, amostras de CQ devem ser analisadas juntamente com as demais amostras, em cada corrida analítica.

As amostras de CQ devem ser incorporadas em intervalos adequados, dependendo do número total de amostras da corrida, sempre em igual número de replicatas de cada concentração (CQB, CQM e CQA).

O número de amostras de CQ (em múltiplos de três) a ser incorporado em cada corrida analítica não deve ser inferior a 5% (cinco por cento) do número de amostras desconhecidas. Para corridas analíticas constituídas de até 120 amostras, pelo menos 6 (seis) CQs (uma duplicata de cada concentração) devem estar presentes.

Os resultados das amostras de CQ servirão de base para aceitação ou rejeição da corrida analítica. No mínimo, 67% (quatro de seis) das amostras de CQ devem estar dentro de mais ou menos 15% dos seus respectivos valores nominais, exceto para o LIQ, para o qual se



admite desvios menores ou iguais a 20%; 33% (duas de seis) amostras de CQ podem estar fora destes limites, mas não para a mesma concentração.

Caso seja feita referência a uma validação de método utilizado para um estudo anterior, os seguintes pré-requisitos deverão ser observados:

O método analítico só será aceito caso tenha sido empregado pela última vez há não mais do que seis meses. Se o método analítico foi empregado pela última vez há mais de seis meses, uma validação de pré-estudo totalmente nova do método deverá ser realizada. Se o método analítico vem sendo empregado continuamente durante os meses anteriores a este estudo, não será necessária nenhuma validação adicional.

14.2 CONTROLE DE QUALIDADE DURANTE A ANÁLISE DE ROTINA DA DROGA E CURVAS DE CALIBRAÇÃO

Uma curva de calibração será gerada para cada analito. Um número suficiente de pontos deverá ser usado para definir adequadamente a relação entre concentração e resposta. O número de pontos usados na construção da curva de calibração será uma função da faixa dos valores analíticos e da natureza da relação analito-resposta. As concentrações dos pontos devem ser escolhidas baseadas na faixa de concentrações esperada do estudo. A curva de calibração deve consistir de uma amostra em branco, uma amostra zero e de 6 (seis) a 8 (oito) pontos que cubram a faixa esperada, incluindo o LOQ. As curvas serão determinadas separadamente para cada lote de amostras e pertencerão exclusivamente a esta corrida.

Devem ser incorporados a cada corrida amostras de Controle de Qualidade num mínimo de 3 (três) concentrações (1 dentro de $3 \times \text{LOQ}$ - CQ de baixa concentração), 1 (um) no meio da faixa (CQ de concentração média) e 1 (um) no final da faixa (CQ de concentração alta). Os resultados das amostras de CQ fornecem a base de aceitação e rejeição de uma corrida. Um mínimo de 67% (4/6) dos CQs devem estar dentro de 15% do seu respectivo valor nominal; 33% dos CQs (não todas as replicatas na mesma concentração) podem estar fora de $\pm 15\%$ do valor nominal. O número total de amostras deve ser ao menos 5% do número de amostras desconhecidas ou 6 CQs totais (o que for maior).

14.3 ANÁLISE DAS AMOSTRAS DO ESTUDO

Serão ocultadas aos analistas, durante as medições analíticas, informações sobre o tratamento dispensado aos voluntários, bem como não lhes será dado acesso à lista de aleatorização dos mesmos.

As amostras serão analisadas como medições individuais.

Após a análise de 10 amostras de voluntários deverão ser incluídos CQ's a fim de se certificar da precisão e exatidão do método.

Amostras com concentrações acima do LSQ serão reanalisadas após diluição (ver item 14.4).

Observações relativas a amostras hemolisadas ou lipêmicas serão documentadas e relacionadas no relatório analítico.

Estudo: SPH29/08_Isoniazida

Documento: Protocolo

Versão: Final

Data: 30 de Setembro de 2008



14.4 OUTLIERS E REPETIÇÃO DE ANÁLISE

Amostras com valores aberrantes que possam ser atribuídos a erros de processamento ou falha de equipamento, assim como procedimentos totais com muitos CQs fora da tolerância pré-definida, serão reanalisadas (contanto que haja suficiente disponibilidade de plasma). Os resultados iniciais serão documentados, mas não relatados.

Se um resultado exceder o mais alto nível da curva de calibração, a amostra será re-analisada após diluição com a matriz (branco), empregando-se um procedimento validado. Os resultados iniciais serão documentados, mas não relatados.

Os resultados analíticos serão revistos pelo Investigador Principal. Ele decidirá sobre reanálises, baseado em considerações farmacocinéticas. Porém, quando a causa for devido a alguma ocorrência na etapa analítica, caberá ao responsável pela etapa analítica requisitar as reanálises.

14.5. QUANTIFICAÇÃO DAS AMOSTRAS

A quantificação das amostras será, em princípio, realizada através da técnica de Cromatografia Líquida acoplada à Espectrometria de Massas em Sequência, e será precedida por uma validação pré-estudo.

14.6. TRATAMENTO E DOCUMENTAÇÃO DE DADOS BIOANALÍTICOS

Todos os valores medidos serão inseridos em planilhas *EXCEL* e documentados de forma impressa e em arquivos eletrônicos de dados. Os dados brutos das medições analíticas serão documentados sob a forma de arquivos eletrônicos de modo a permitir a identificação retrospectiva dos valores individuais medidos e a identificação dos valores integrados automática e manualmente, respectivamente. Quando houver sido realizada reintegração manual para a determinação dos valores analíticos, os valores originais obtidos por integração automática deverão ser documentados em arquivos no formato de PDF.

Os resultados (concentrações plasmáticas) obtidos, assim como as demais informações relacionadas ao procedimento serão objeto do Relatório Analítico a ser elaborado, por ocasião da conclusão do estudo.

15. ANÁLISE FARMACOCINÉTICA

A análise farmacocinética será realizada com o apoio dos seguintes softwares:

- ✓ EquivTest, versão 2.0;
- ✓ Microsoft Excel, versão 97;
- ✓ R2.2

Serão apresentadas, também, as seguintes informações:

Estudo: SPH29/08_Isoniazida
Documento: Protocolo
Versão: Final
Data: 30 de Setembro de 2008



- Para cada voluntário, gráfico *concentração vs. tempo*, em escala linear, para cada formulação e os respectivos parâmetros farmacocinéticos.
- Para o conjunto dos voluntários, gráfico *concentração vs. tempo*, em escala linear, para cada formulação, juntamente com as seguintes estatísticas: média aritmética, desvio padrão (ou mediana e amplitude, conforme apropriado). Outras estatísticas poderão ser apresentadas se necessário.

15.1 PARÂMETROS FARMACOCINÉTICOS

Os seguintes parâmetros serão determinados:

I) Cálculo de:

- ASC_[0-last] Área sob a curva de *concentração vs. tempo*, do tempo 0 (zero) ao tempo da última concentração observada acima do limite de quantificação calculada pelos métodos dos trapézios.
- ASC_[0-∞] Área sob a curva de concentração da droga *versus* tempo do tempo 0 (zero) extrapolada ao infinito, calculada como $ASC_{[0-∞]} = ASC_{[0-t]} + C_t / K_e$, em que C_t é a última concentração determinada acima do limite de quantificação.
- K_e Constante de Eliminação de Primeira Ordem, estimada pelo coeficiente angular da reta de regressão, calculada pelo método dos mínimos quadrados, do logaritmo natural da *concentração vs. tempo* para os últimos quatro valores de concentração (ou no mínimo três) acima do limite de quantificação.
- $T_{1/2}$ Meia-vida, calculada como $\ln(2) / K_e$.

II) Determinação de:

- C_{max} Maior concentração alcançada, com base nos dados experimentais, obtida diretamente na curva *concentração vs. tempo*;
- T_{max} Tempo no qual ocorre o C_{max} .

15.2 DESCRIÇÃO DOS CRITÉRIOS E MÉTODOS ESTATÍSTICOS



Será empregada análise de variância apropriada para o modelo de 2 períodos cruzados, sob os dados de ASC e C_{max} transformados logaritmicamente, a qual levará em conta em seu modelo os efeitos de seqüência, paciente dentro da seqüência, tratamento e período.

A flutuação do fármaco teste será avaliada por comparação com a flutuação do fármaco referência.

A verificação de existência de efeito residual será realizada com base nos testes de seqüência da ANOVA, utilizando-se como parâmetro o P valor obtido com base na F_{stat} do efeito de seqüência (Sequence Hypothesis of model effects).

Serão calculados os pontos paramétricos e estimativas dos intervalos da razão T/R (formulação "teste" / formulação "referência") para os valores de ASC e C_{max} de cada formulação Teste. A biodisponibilidade relativa de cada formulação Teste versus Referência será avaliada pelas razões das médias geométricas (pontos estimados). O intervalo de confiança de 90% servirá como estimativa de intervalo e será determinado por análises paramétricas (dois testes t unilaterais – $p=0.05$).

Dois medicamentos serão considerados bioequivalentes se os valores extremos do intervalo de confiança de 90% da razão das médias geométricas ($ASC_{0-t\ teste}/ASC_{0-t\ referencia}$ e $C_{max\ teste}/C_{max\ referencia}$) forem maiores que 0,8 e menores que 1,25. Outros limites de IC de 90% para C_{max} , previamente estabelecidos no protocolo, poderão ser aceitos mediante justificativas científicas. Quando clinicamente relevante, T_{max} deverá também ser considerado (RDC no. 1170, de 19/04/06– ANVISA- MS).

A análise realizada com o emprego dos seguintes programas de computador: EquivTest Versão 2.0; R2.2 e Microsoft Excel Versão 7.0.

A entrada de dados e seu processamento inicial se darão através de arquivos MS Excel, com base nos dados derivados dos equipamentos de análise. Os dados brutos bem como os resultados das avaliações farmacocinéticas e estatísticas ficarão disponíveis em papel e em meio eletrônico.

15.3. SELEÇÃO DOS VOLUNTÁRIOS A SEREM INCLUÍDOS NA ANÁLISE

Serão inicialmente incluídos na análise todos os voluntários que vierem a completar todos os períodos do estudo.

A verificação da presença de possíveis pontos atípicos (outliers) será feita através da análise de Box-plots, que fornece informações sobre posição, dispersão, assimetria e valores discrepantes.

Poderão ser excluídos voluntários que apresentem comportamento discrepante em relação aos demais voluntários, no que se refere aos parâmetros farmacocinéticos, ou ainda aqueles em que a quantificação das amostras claramente apresentem problemas suficientemente expressivos que impeçam a comparação entre as formulações. As exclusões deverão ser documentadas e justificadas no Relatório Final e ambos os resultados (com e sem as exclusões) serão apresentados no relatório final. Voluntários não serão excluídos da análise por razões exclusivamente matemáticas ou estatísticas.

16. CONTROLE DE QUALIDADE E GARANTIA DE QUALIDADE

O controle de qualidade inclui todas as atividades realizadas durante e após a realização do estudo. As atividades e técnicas empregadas estarão de acordo com os procedimentos definidos pelas instituições envolvidas em cada etapa (clínica, analítica e estatística), de comum acordo com o patrocinador, cabendo a cada uma a responsabilidade final pela qualidade de suas correspondentes atividades.

Qualquer desvio do plano deste protocolo deverá ser descrito e justificado, submetido à aprovação do CEP e apresentado no Relatório Final.

17. ACESSO DIRETO AOS DOCUMENTOS/DADOS FONTE

O Investigador Principal, e as instituições envolvidas se comprometem a permitir a realização de atividades de monitoração por parte do patrocinador ou seu proponente; auditorias oficiais, revisão por parte do Comitê de Ética em Pesquisa e inspeção pelos órgãos governamentais envolvidos, proporcionando, caso seja necessário, o acesso aos dados brutos, única e exclusivamente para fins relacionados ao estudo.

Não obstante, este direito de acesso implica a anuência dos envolvidos aos aspectos de confidencialidade dos dados. As informações assim obtidas somente poderão ser utilizadas para os fins diretos das atividades que estiverem sendo exercidas, mantendo-se mesmo assim o sigilo quanto à identidade dos voluntários.

Caso qualquer das autoridades envolvidas não estiver obrigada por lei a manter os dados em sigilo, não será permitido que estas tenham acesso a qualquer documento onde os dados de identificação do voluntário estejam disponíveis.

18. POLÍTICA DE PUBLICAÇÃO DOS DADOS

Toda a informação não publicada relacionada a este protocolo é de propriedade do Instituto e Tecnologia em Fármacos - Farmanguinhos. Nenhuma informação não publicada pode ser divulgada sem a aprovação por escrito do Instituto de Tecnologia em Fármacos - Farmanguinhos.

19. CRITÉRIOS DE ACEITAÇÃO DE DESVIOS DE PROTOCOLO

Todos os procedimentos relativos ao estudo serão checados pela Unidade da Garantia da Qualidade da Synchrophar e da Unidade de Análise das Amostras de forma que sejam cumpridos de acordo com o descrito no protocolo.

Caso haja algum desvio de protocolo, este será julgado pelo Investigador Principal que decidirá se o impacto deste no estudo é significativo ou não.

Todos os desvios serão devidamente registrados nos relatórios pertinentes.

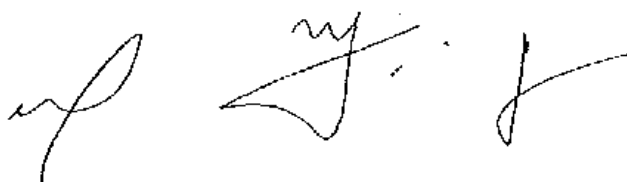


20. RELATÓRIOS

O Relatório Clínico será enviado com os Formulários de Relato de Caso (CRFs).
Os relatórios Analítico, Estatístico e Final, serão fornecidos de acordo com os contratos firmados entre as partes envolvidas.

21. ANEXOS

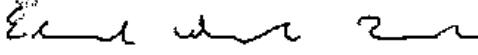
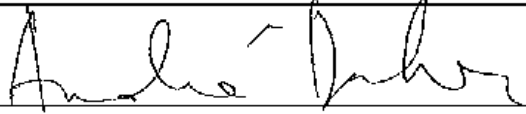
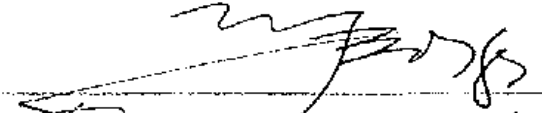
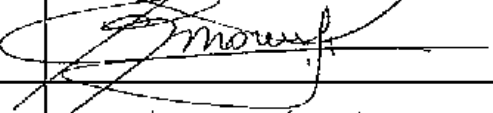
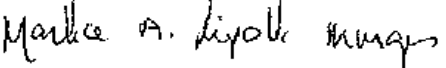
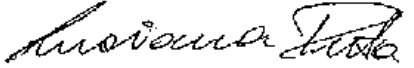
- 01 - Lista de Aleatorização
- 02 - Dieta
- 03 - Termo de Recrutamento
- 04 - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
- 05 - Folha de Eventos Adversos
- 06 – Eventos Adversos Relacionados ao Sistema Digestório.
- 07 - Esquema de Estudo
- 08 - Amostra de retenção - Inventário
- 09 - POP EC pro10- Processamento, Armazenamento, Transporte e envio das Amostras.



PÁGINA DE ASSINATURAS

TÍTULO DO PROTOCOLO: “Estudo clínico de farmacocinética de duas formulações de Isoniazida em voluntários sadios de ambos os sexos: Isoniazida comprimido de 300 mg (Teste) produzido pelo Instituto de Tecnologia e Fármacos – Farmanguinhos e Isoniazida-LAQFA[®] 03 comprimidos de 100 mg (Referência) produzido pelo Laboratório Químico Farmacêutico da Aeronáutica”.

Li este Projeto, seu Protocolo Experimental e o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e concordo em conduzir este estudo em conformidade com o estipulado pelo Protocolo, pelas Resoluções nº 196/96 e 251/97 do Conselho Nacional de Saúde - Ministério da Saúde, pelas recomendações da ICII de Boas Práticas Clínicas e de acordo com a Declaração de Helsinki (1965) e as revisões de Tóquio (1975), Veneza (1983), África do Sul (1996) e Escócia (2000).

Investigadores	Assinaturas
Dr. Eduardo Wemeck Barbosa	
Dr. André Bastos Daher	
Dr. Ney Carter do Carmo Borges	
Dr. Ronilson Agnaldo Moreno	
Dr ^a . Marlice A Sípoli Marques	
MsC. Luciana da Rocha Pitta	

Anexo 1

ALEATORIZAÇÃO DOS MEDICAMENTOS

“Estudo clínico de farmacocinética de duas formulações de Isoniazida em voluntários sadios de ambos os sexos: Isoniazida comprimido de 300 mg (Teste) produzido pelo Instituto de Tecnologia e Fármacos – Farmanguinhos e Isoniazida-LAQFA® 03 comprimidos de 100 mg (Referência) produzido pelo Laboratório Químico Farmacêutico da Aeronáutica.”

Seqüência de Administrações			
Voluntário	Sexo	Período 1	Período 2
1	M	T	R
2	F	R	T
3	M	R	T
4	M	T	R
5	M	R	T
6	F	T	R
7	M	R	T
8	F	T	R
9	M	R	T
10	F	T	R
11	M	T	R
12	F	R	T
13	F	T	R
14	F	R	T
15	M	R	T
16	M	R	T
17	F	T	R
18	F	R	T
19	M	R	T

Estudo: SPH29/08_Isoniazida

Documento: Aleatorização

Versão: Final

Data: 30 de Setembro de 2008

20	F	T	R
21	F	T	R
22	M	T	R
23	F	R	T
24	F	R	T
25	M	T	R
26	M	T	R
27	F	T	R
28	M	R	T

Anexo 02

REFEIÇÕES

Dieta geral isenta de xantina em torno de 2500 a 2700 Kcal que corresponde a 4 refeições (jantar na noite da internação, almoço, lanche da tarde e jantar no dia da alta hospitalar)

JANTAR

arroz

feijão

01 porção de legume ou verdura refogada

01 porção de salada

01 porção de carne

01 sobremesa (fruta ou doce)

ALMOÇO

arroz

feijão

01 porção de legume ou verdura refogada

01 porção de salada

01 porção de carne

01 sobremesa (fruta ou doce)

LANCHE DA TARDE

Pão c/manteiga, iogurte, fruta.

JANTAR

arroz

feijão

01 porção de legume ou verdura refogada

01 porção de salada

01 porção de carne

01 sobremesa (fruta ou doce)



ANEXO 3

TERMO DE RECRUTAMENTO

Você está sendo convidado a participar de um processo de recrutamento de voluntários para um projeto de pesquisa clínica. Sua participação é importante, porém, você não deve participar contra a sua vontade.

A sua participação neste processo de recrutamento tem como objetivo avaliar suas condições de saúde para possível participação em um projeto de pesquisa clínica.

Após participar da palestra informativa e realizar o cadastro de dados pessoais, você será encaminhado para consulta de enfermagem, a fim de se obter assinatura do Termo de Recrutamento (Anexo 3) em duas vias (uma via é fornecida ao voluntário e a outra arquivada em sua documentação), e realização da consulta de enfermagem (história clínica, dados antropométricos, sinais vitais e teste de hemoglobinometria). Em posse do resultado do teste de hemoglobinometria, dados antropométricos e sinais vitais, segundo o critério de inclusão do estudo, será definido pelo prosseguimento do voluntário no processo de recrutamento, considerando apto ou inapto, se for considerado inapto, este recebe as orientações pertinentes e se necessário será encaminhado para o serviço de saúde. Os voluntários aptos, serão encaminhados para consulta médica para realização do exame físico e anamnese. Caso o voluntário seja considerado apto será encaminhado para fazer exames laboratoriais, segundo Resolução RE nº 894, de 29 de maio de 2003 (Hemograma, bioquímica, teste de gravidez (βHCG) para as mulheres e sorologia para HIV, Hepatite B e C) e exames complementares, caso contrário o voluntário receberá as orientações pertinentes e se necessário será encaminhado para o serviço de saúde. Após o recebimento e avaliação dos resultados dos exames laboratoriais e complementares, o médico avaliará a aptidão do voluntário para participação no estudo ou, em caso contrário, receberá orientações pertinentes e se necessário será encaminhado para o serviço de saúde.

Se necessário serão realizados exames para a detecção de drogas de abuso (cannabis, cocaína, benzodiazepínicos, opiáceos, anfetaminas).

Você tem a liberdade de desistir ou interromper a participação no processo no momento que desejar, sem necessidade de qualquer explicação que influencie em sua vida pessoal e que esta desistência não implicará em qualquer penalidade.

Os resultados obtidos durante o processo serão mantidos em sigilo, e a Synchrophar não identificará você por ocasião da exposição e/ou publicação dos mesmos. Você receberá todas as informações sobre os resultados dos exames e orientações sobre qualquer anormalidade.

Caso esteja sob tratamento médico no momento, ou esteja fazendo uso de quaisquer drogas ou medicações, ou tenha participado de qualquer outro ensaio clínico no período de 180 dias antes da assinatura deste termo de seleção prévia, você não poderá ser recrutado.

Estudo: SPH29/08 Isoniazida
Documento: Termo de Recrutamento
Versão: Final
Data: 30 de Setembro de 2008



Caso tenha doado ou perdido 450 mL ou mais de sangue dentro dos quatro meses, ou perdido mais de 1500 mL dentro dos 12 meses antes da data de avaliação, você não poderá ser recrutado.

Caso seja selecionado para participar do estudo, você fará uma nova entrevista antes da internação quando serão fornecidos os detalhes do estudo. Neste caso, você deverá assinar um outro termo denominado termo de consentimento livre e esclarecido antes da administração da medicação.

Eu, _____, nascido em
____/____/____, RG _____, após ter lido as orientações acima, declaro que
é de livre e espontânea vontade que estou participando como voluntário de um processo de
recrutamento para um projeto de pesquisa clínica na Synchronphar, sob responsabilidade do
Pesquisador Principal Dr. Eduardo Werneck Barroso, dos Responsáveis pela Etapa Clínica
Dr. Ney Carter do Carmo Borges e Dr. Ronilson Agnaldo Moreno e das Enfermeiras
Responsáveis da Synchronphar Assessoria e Desenvolvimento de Projetos Clínicos S/S Ltda.

Campinas, ____ de _____ de 200__.

Assinatura do voluntário

Assinatura da enfermagem

Assinatura de testemunha
(Necessário somente se o voluntário não souber ler)



“Estudo clínico de farmacocinética de duas formulações de Isoniazida em voluntários sadios de ambos os sexos: Isoniazida comprimido de 300 mg (Teste) produzido pelo Instituto de Tecnologia e Fármacos – Farmanguinhos e Isoniazida-LAQFA[®] 03 comprimidos de 100 mg (Referência) produzido pelo Laboratório Químico Farmacêutico da Aeronáutica”

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Você está sendo convidado a participar de um projeto de pesquisa. Sua participação é importante, porém, você não deve participar contra a sua vontade.

Leia atentamente as informações abaixo e faça qualquer pergunta que desejar, para que todos os procedimentos desta pesquisa sejam esclarecidos.

Responsáveis: Dr. Eduardo Werneck Barroso, Dr. Ney Carter do Carmo Borges e Dr. Ronilson Agnaldo Moreno

INFORMAÇÃO BÁSICA SOBRE A MEDICAÇÃO

Isoniazida é um medicamento que produz efeito antibacteriano. É um fármaco utilizado para o tratamento de tuberculose (TBC) e associada com outros antituberculosos no tratamento da TBC, meningite tuberculosa, infecções micobacterianas atípicas.

PROPÓSITO DO ESTUDO

O objetivo deste estudo é avaliar se a formulação de Isoniazida - comprimido de 300 mg produzido pelo Instituto de Tecnologia em Fármacos - Farmanguinhos - *produto teste* - atinge níveis plasmáticos equivalentes aos da formulação de Isoniazida-LAQFA[®] 03 comprimidos de 100 mg - *produto referência* - produzido pelo Laboratório Químico Farmacêutico da Aeronáutica, você receberá 01 comprimido do medicamento teste e 03 comprimidos do medicamento referência de cada uma das duas medicações, cada uma em um período de internação diferente. A ordem que você tomará cada medicação obedecerá a um sorteio realizado por computador (randomização).

PROCEDIMENTOS A SEREM REALIZADOS E RESPONSABILIDADES

Antes de sua participação no estudo e após a sua participação você será convidado a ir a Synchronphar para avaliar a sua condição de saúde.

Após participar da palestra informativa e realizar o cadastro de dados pessoais, você será encaminhado para consulta de enfermagem, a fim de se obter assinatura do Termo de Recrutamento (Anexo 3) em duas vias (uma via é fornecida ao voluntário e a outra arquivada em sua documentação), e realização da consulta de enfermagem (história clínica, dados antropométricos, sinais vitais e teste de hemoglobinometria). Em posse do resultado do teste de hemoglobinometria, dados antropométricos e sinais vitais, segundo o critério de inclusão do estudo, será definido pelo prosseguimento do voluntário no processo de recrutamento, considerando apto ou inapto, se for considerado inapto, este recebe as orientações pertinentes e se necessário será encaminhado para o serviço de saúde. Os voluntários aptos, serão encaminhados para consulta médica para realização do exame físico e anamnese. Caso o voluntário seja considerado apto será encaminhado para fazer exames laboratoriais, segundo Resolução RE nº 894, de 29 de

maio de 2003 (Hemograma, bioquímica, teste de gravidez (β HCG) para as mulheres e sorologia para HIV, Hepatite B e C) e exames complementares, caso contrário o voluntário receberá as orientações pertinentes e se necessário será encaminhado para o serviço de saúde. Após o recebimento e avaliação dos resultados dos exames laboratoriais e complementares, o médico avaliará a aptidão do voluntário para participação no estudo ou, em caso contrário, receberá orientações pertinentes e se necessário será encaminhado para o serviço de saúde.

No dia de sua internação no Hospital Irmãos Pentecosteiros você passará por um outro exame clínico e de enfermagem no qual serão verificados: seu pulso, sua temperatura e sua pressão. Caso você seja mulher, deverá fazer um exame de detecção de gravidez β HCG (na urina).

Você não poderá levar consigo alimentos e bebidas e nem outros objetos que não sejam de uso pessoal (roupas íntimas, xampu, condicionador, sabonete). Você terá seus pertences revistados para checar que você está cumprindo o que foi estabelecido neste parágrafo.

Ao chegar no Hospital, você será encaminhado para um quarto, onde será realizado o jantar e depois dormirá. Você deverá ficar no quarto não podendo circular pelo Hospital. Durante o estudo, você será internado 2 vezes por aproximadamente 24 horas cada período, com intervalo mínimo de 07 dias. Todas as internações serão realizadas da mesma maneira, inclusive com o mesmo cardápio.

Em cada período de internação a) Você deverá permanecer em jejum por pelo menos 08 horas antes da medicação, b) será puncionada uma veia em seu braço que deverá ficar até o final da internação, c) será retirada uma amostra de 15 mL de sangue antes da administração da medicação, d) será administrado 01 comprimido de Isoniazida de 300 mg e 3 comprimidos de Isoniazida-LAQFA[®] de 100 mg acompanhado de 200 mL de água sem gás, e) serão coletadas 32 amostras (16 amostras em cada período) de sangue de 7,5 mL cada, através de agulha que foi colocada na veia do seu braço, f) em intervalos regulares será verificada sua pressão, pulso e temperatura, g) serão servidas refeições padronizadas (jantar na noite da internação, almoço, lanche da tarde e jantar no dia da alta hospitalar) e bebidas em horários preestabelecidos, h) após a coleta de 12 horas você receberá alta do hospital, i) você deverá retornar à Synchrophar para as coletas de amostras correspondentes ao tempo de 24 horas após a administração do medicamento.

Um total de 300 mL de sangue serão colhidos durante todo o estudo. A duração total de sua participação na pesquisa está estimada em 30 dias, a contar da primeira internação, após o processo de seleção.

RESPONSABILIDADES DO VOLUNTÁRIO

É condição indispensável, para participação no estudo, que você esteja em boas condições de saúde e, portanto, não esteja no momento sob tratamento médico ou fazendo uso de quaisquer drogas ou medicações e não poderá ter doado sangue nos últimos 4 meses. Você também não poderá ter participado de qualquer estudo clínico que envolva medicamento pelo menos nos últimos 6 meses.

Você não poderá:

a) 24 horas que antecedem a administração pretendida da droga até a última coleta de sangue: ingerir bebidas alcoólicas,

- b) 24 horas antes da primeira coleta de sangue até o exame de acompanhamento: praticar exercícios físicos muito intensos;
- c) 12 horas que antecedem a administração da medicação até a última coleta de sangue: tomar bebidas contendo cafeína e xantinas, como por exemplo, café, chá, coca-cola, chocolate. Em caso de necessidade, perguntar para os responsáveis pelos telefones que se encontram no final deste termo.

É ainda de sua responsabilidade em relação à sua participação no ensaio clínico: a) comparecer às internações na data e horários informados, b) tomar toda a medicação prevista, c) ingerir toda a alimentação e líquidos previstos, d) retornar à unidade na data e horários combinados para a realização da consulta e exames de alta, independentemente de haver sido interrompida sua participação no estudo ou de sua desistência.

Caso você seja mulher, é condição indispensável para participação no ensaio clínico que você não esteja grávida. Isso será comprovado por exame de gravidez no sangue (BHCG) e por exames feitos através da urina (uofita) antes de cada uma das internações. Sua participação não será permitida caso você engravidar após a realização dos exames clínico-laboratoriais, se você estiver amamentando ou se estiver pretendendo engravidar durante o prazo de duração do estudo. Caso, mesmo tendo considerado estas precauções, vier a suspeitar que engravidou durante a participação no estudo, deverá comunicar imediatamente o fato à equipe e deverá interromper sua participação sem prejuízo dos seus direitos.

RESPONSABILIDADES DA SYNCHROPHAR

É de responsabilidade do nosso investigador garantir que você receba um tratamento definitivo para qualquer evento adverso (eventos não programados que afetam a saúde), se necessário. Os eventos adversos deverão ser seguidos clinicamente e por análises laboratoriais (quando indicados) até que os resultados dos exames voltem ao normal. Estas atividades podem permanecer mesmo após o estudo ter sido completado. A equipe da Synchronphar irá monitorar a sua segurança clínica desde a ocorrência de um evento adverso até a recuperação satisfatória. Em casos de emergência o Hospital de internação estará dando todo o suporte que você precisar.

POSSÍVEIS RISCOS E DESCONFORTOS

A administração oral de Isoniazida pode causar efeitos colaterais como: Diversas anemias, agranulocitose, trombocitopenia e eosinofilia. Menos de 1% dos pacientes apresentam reações cutâneas, incluindo urticária, púrpura, lúpus eritematoso e dermatite exfoliativa.

Neuropatia periférica é o efeito tóxico mais comum. Outros efeitos neurotóxicos incomum com doses convencionais são: convulsões, encefalopatia tóxica, neurite, prejuízo de memória, e psicose tóxica.

Efeitos hepáticos como elevação das Transaminases (SGOT; SGPT), bilirrubinemia, bilirrubinúria, icterícia ocasionalmente severo e às vezes hepatite fatal. Também foram relatadas agranulocitose, eosinofilia, trombocitopenia, anemia hemolítica, sideroblástica ou aplástica.

Outros efeitos adversos incluem: náuseas, vômito, boca seca, constipação, febre, vertigem, vasculite, hiperreflexia, retenção de urina e Ginecomastia.

Além dos efeitos citados, a administração de qualquer medicamento pode causar reações imprevisíveis.

A retirada de sangue é um procedimento seguro. Pode causar um leve desconforto devido à picada da agulha e ocasionalmente, uma mancha roxa pequena no local da picada.

BENEFÍCIOS OU COMPENSAÇÕES

A participação neste estudo, não tem o objetivo de submetê-lo a um tratamento terapêutico. Conseqüentemente, não se espera que a participação no estudo traga qualquer benefício em função do tratamento.

INTERCORRÊNCIAS (efeitos indesejáveis)

Se você sofrer algum malefício em decorrência direta de sua participação no estudo, você receberá tratamento, sem qualquer custo. Não haverá, no entanto qualquer compensação de ordem financeira em função do ocorrido, a não ser que a condição faça jus à indenização prevista no Seguro de Vida em Grupo mencionado abaixo. Contudo, ao assinar este termo, você não está renunciando qualquer direito legal que você possui. Durante o período de 180 dias a partir da data da assinatura deste termo, você estará assegurado pelo Seguro de Vida em Grupo da Mongeral S/A Seguros e Previdência.

RESSARCIMENTO

Você será ressarcido no valor de R\$ 440,00 (Quatrocentos e quarenta reais) para as despesas e tempo despendido para a realização deste estudo. A sua desistência ou dispensa antes do comparecimento para a primeira internação não dá direito a ressarcimento. Caso desista em uma das internações e/ou não compareça as coletas externas, você será excluído do estudo e o ressarcimento não será efetuado (Resolução 1170 item 3.1.3). Caso seja dispensado antes do estudo ser finalizado, você receberá no final do estudo, o valor proporcional ao tempo despendido. O ressarcimento será efetuado após a consulta de alta. Caso você não compareça no dia da alta, será realizado 03 contatos. Se você não comparecer nas datas agendadas, seu processo será finalizado, e seu ressarcimento cancelado.

Estima-se que durante o período de sua participação no estudo você terá como despesa apenas os gastos de deslocamento da sua residência ou trabalho até a Synchronphar para a realização dos exames e consultas. O transporte da Synchronphar até o Hospital Irmãos Pentecado será providenciado pela Synchronphar. Ainda devem ser previstas eventuais visitas posteriores para acompanhamento dos eventos adversos. O ressarcimento destas despesas já está incluído no valor estabelecido no item acima.

PARTICIPAÇÃO VOLUNTÁRIA

Sua participação é voluntária e você tem a liberdade de desistir ou interromper a participação neste estudo no momento que desejar. Neste caso, você deve informar imediatamente sua decisão ao pesquisador ou a um membro de sua equipe, sem

documento denominado Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e que tive oportunidade de fazer perguntas sobre o seu conteúdo e também sobre o Estudo. Recebi explicações que responderam por completo minhas dúvidas e reafirmo estar livre e espontaneamente decidindo participar do Estudo, sob responsabilidade do Dr. Eduardo Werneck Barroso, Dr. Ney Carter do Carmo Borges, do Dr. Ronilson A. Moreno e das Enfermeiras Responsáveis da Synchrophar Assessoria e Desenvolvimento de Projetos Clínicos S/S Ltda.

Ao assinar este Termo de Consentimento eu também estou certificando que toda a informação que eu prestei, incluindo minha história médica, é verdadeira e correta até onde é de meu conhecimento, e declaro estar recebendo uma cópia assinada deste documento.

Ao assinar este Termo de Consentimento estou autorizando o acesso às minhas informações de saúde aos membros da equipe e a monitores, auditores, membros do Comitê de Ética em Pesquisa e membros de órgãos regulamentares envolvidos, nas condições descritas acima.

Ao assinar este Termo de Consentimento eu não renunciei qualquer direito legal que eu venha a ter ao participar deste Estudo.

<input checked="" type="checkbox"/>	Nome do Voluntário
	Data: ____ / ____ / ____
<input checked="" type="checkbox"/>	Assinatura
<input checked="" type="checkbox"/>	Responsável pela obtenção do termo de consentimento
	Data: ____ / ____ / ____
<input checked="" type="checkbox"/>	Testemunha
	(Necessário somente se o voluntário não souber ler)
	Data: ____ / ____ / ____

CONTATOS:

Dr. Eduardo Werneck Barroso
(21) 9959-8959

Dr. Ney Carter do Carmo Borges
(19) 9304 7658

Dr. Ronilson Agnaldo Moreno
(19) 9304 7654



Anexo 6

Estudo: Isoniazida comprimido de 300 mg

Protocolo: SPH - 029/08

SYNCHROPHAR ASSESSORIA E DESENVOLVIMENTO DE PROJETOS CLÍNICOS S/S LTDA

Número do Voluntário: _____

Identificação: _____

Eventos Relacionados ao Sistema Digestório

Período de avaliação do Tmax Previsto () _____

Você teve náusea?	() Sim	() Não	EA#: _____
	() Sim	() Moderada () Leve	Hora: _____
Obs.: _____			

Você teve vômito?	() Sim	() Não	EA#: _____	
Característica:	() Coalhado	() Pastoso	() Líquido	Hora: _____
Quantidade em ml.:	_____	Cor: _____		
Frequência:	_____	vezes		
Obs.: _____				

Você teve dor abdominal?	() Sim	() Não	EA#: _____
	() Intensa	() Moderada () Leve	Hora: _____
Obs.: _____			

Você teve aumento do volume abdominal?	() Sim	() Não	EA#: _____
			Hora: _____
Obs.: _____			

Você teve flatulência?	() Sim	() Não	EA#: _____
Frequente?	() Sim	() Não	Hora: _____
Obs.: _____			

Você teve eructação?	() Sim	() Não	EA#: _____
Frequente?	() Sim	() Não	Hora: _____
Obs.: _____			

Médico Responsável

Assinatura

Data e Hora do Exame

Hospital:

Estudo: SPH29/08_Isoniazida
Documento: Eventos Relacionados ao Sistema Digestório
Versão: Final
Data: 30 de Setembro de 2008



Anexo 6

Estudo: Isoniazida comprimido de 300 mg

Protocolo: SPH - 029/08

SYNCHROPHAR ASSESSORIA E DESENVOLVIMENTO DE PROJETOS CLÍNICOS S/S LTDA

Número do Voluntário: _____

Identificação: _____

Você percebeu alteração no paladar?	() Sim	() Não	EA#: _____
Descrição: _____			Hora: _____
Você percebeu alteração nas fezes?	() Sim	() Não	EA#: _____
Frequência:	() Aumentou	() Diminuiu	Hora: _____
Característica:	() Sólida	() Pastosa	() Líquida
Quantidade:	() Grande	() Média	() Pequena
Cor: _____	Obs.: _____		
Você teve azia/queimação?	() Sim	() Não	EA#: _____
	() Intensa	() Moderada	() Leve
Obs.: _____			Hora: _____
Você teve alteração na salvação?	() Sim	() Não	EA#: _____
	() Intensa	() Moderada	() Leve
Obs.: _____			Hora: _____

Médico Responsável

Assinatura

Data e Hora do Exame

Hospital:

Estudo: SPH29/08_Isoniazida
Documento: Eventos Relacionados ao Sistema Digestório
Versão: Final
Data: 30 de Setembro de 2008

	012:00 hora	Coleta de Sangue, PA, Pulso, Temperatura ,
	024:00 hora	Coleta de Sangue, , , , ,
Período Pós-Estudo		
		HISTÓRIA CLÍNICA PÓS-ESTUDO
		ELETROCARDIOGRAMA PÓS-ESTUDO
		EXAME CLÍNICO PÓS-ESTUDO
		EXAMES LABORATORIAIS PÓS-ESTUDO

ANEXO 08

AMOSTRA DE RETENÇÃO – INVENTÁRIO

AMOSTRAS FORMULAÇÃO REFERÊNCIA

Declaro para os devidos fins que utilizamos para a realização do estudo de biodisponibilidade a seguinte medicação.

Nome:	
Fabricante:	
Princípio Ativo:	
Forma:	
Concentração:	
Lote Nº:	
Fabricação:	
Validade:	
Quantidade:	
Total:	
Cond. de estocagem	

Distribuição da medicação:

Amostras de retenção:	
Amostras utilizadas:	
Amostras perdidas	
TOTAL:	



Synchrophar

AMOSTRAS FORMULAÇÃO TESTE


Declaro para os devidos fins que utilizamos para a realização do estudo de biodisponibilidade a seguinte medicação.

Nome:
Fabricante:
Princípio Ativo:
Forma:
Concentração:
Lote Nº:
Fabricação:
Validade:
Quantidade:
Total:
Cond. de Estocagem

Distribuição da medicação:

Amostras de <u>retenção</u> :	
Amostras utilizadas:	
Amostras perdidas:	
TOTAL:	

Declaro também que as amostras de retenção (Referência e Teste) estão armazenadas em armário próprio, com temperatura e umidade controladas pela coordenadora de estudos clínicos na Synchrophar Assessoria e Desenvolvimento de Projetos Clínicos S/S Ltda situada na Rua Candido Gomide nº 38 Campinas, à disposição para inspeção.

 Synchronphar		
Etapa Clínica		Data operacionalização: 03/09/2007
		Versão: 02
POP EC pro 10	Validade: setembro/2008	Página 1 de 12
Processamento, Armazenamento, Transporte e Envio das Amostras		

1. OBJETIVO

Estabelecer padronização para os seguintes procedimentos: processamento, armazenamento, transporte e envio das amostras de plasma.

2. ABRANGÊNCIA

Equipe de centrifugação e motorista habilitado para transporte de amostras.

3. POPs RELACIONADOS – versões vigentes

POP EC pro 09 - Coleta de Amostras de Sangue dos Voluntários.

4. LEGISLAÇÕES


Este POP segue o disposto na resolução: RDC no. 302 de 13 de outubro de 2005, além de boas práticas internacionais.

5. RESPONSABILIDADES

Equipe de centrifugação: responsável pelo processamento e armazenamento das amostras de sangue.

Motorista habilitado: realizar o transporte de amostras da unidade de internação para a unidade clínica e desta para a unidade analítica quando necessário.





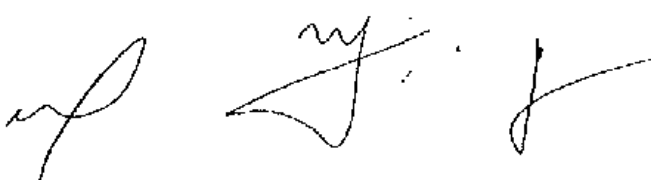
Synchrophar


Etapa Clínica		Data operacionalização: 03/09/2007
		Versão: 02
POP EC pro 10	Validade: setembro/2008	Página 2 de 12
Processamento, Armazenamento, Transporte e Envio das Amostras		

6. PROCEDIMENTOS

6.1 Centrifugação:

- O responsável pela centrifugação deve separar os tubos com sangue por tempo de coleta e leva-los à centrífuga, verificando o balanceamento adequado para o bom funcionamento do aparelho. Em seguida o material é centrifugado conforme estabelecido pelo protocolo do estudo;
- Utilizando uma pipeta Pasteur e/ou pontelras descartáveis, transferir o plasma do tubo centrifugado para dois tubos criogênico, com tampa tipo rosca ou rolha, de vedação segura. As etiquetas destes tubos devem ser iguais;
- Os tubos de coleta com refugo são descartados no lixo infectante;
- Levar os tubos para o freezer e armazenar nas estantes reservadas para recebê-los. Temperatura do freezer conforme protocolo;
- Em seguida devem ser anotadas a hora de entrada das amostras no freezer e a temperatura no formulário identificado por "Tabela de Controle de Entrada de Amostras no Freezer" (ANEXO1);
- Para amostras hemolisadas, deve-se preencher o ANEXO 2 de acordo com o grau de hemólise apresentada.





Synchrophar

Etapa Clínica		Data operacionalização: 03/09/2007
		Versão: 02
POP EC pro 10	Validade: setembro/2008	Página 3 de 12
Processamento, Armazenamento, Transporte e Envio das Amostras		

6.2 Preparação e Transporte:

- Os tubos de criogênico dos voluntários são organizados e colocados em sacos plásticos individuais (um para cada voluntário) ou em caixas com no máximo quatro voluntários por caixa, referentes ao período da internação;
- Os tubos devem ser apresentados na ordem crescente de tempo de coleta por Internação. Dentro do saco plástico é colocado um papel cartão, recortado no tamanho do conjunto de tubos. Este tem como função manter os tubos na ordem, dando firmeza ao pacote que está sendo confeccionado. Em seguida, o saco plástico é selado ao redor dos tubos apoiados no papel cartão;
- No caso das caixas, os tubos de criogênico também se apresentam na ordem crescente de tempo de coleta e na tampa consta a identificação do voluntário, conforme abaixo;
- As embalagens de amostras de todos os voluntários, do mesmo estudo, identificados com o nome da droga, código do voluntário, SPH, fase, e data e são guardados juntos. Ao final de cada internação, as amostras congeladas são encaminhadas para a Synchrophar em caixas térmicas contendo gelo reciclável ou gelo seco e termômetro apropriado para o monitoramento da temperatura. As amostras permanecerão nos freezers da empresa (temperatura conforme protocolo) até o seu envio para o laboratório onde será realizada a etapa analítica do estudo.
- A faixa de temperatura dos freezers convencionais é de -10 °C a -40°C e, do freezer de alta refrigeração é de -65 °C e -85°C.





Synchrophar

Etapa Clínica		Data operacionalização: 03/09/2007
		Versão: 02
POP EC pro 10	Validade: setembro/2008	Página 4 de 12
Processamento, Armazenamento, Transporte e Envio das Amostras		

6.3 Envio:

O responsável pelo envio das amostras ao laboratório analítico deve:

- Acondicionar os pacotes de tubos de amostras (todas as fases) de um estudo em uma caixa térmica, identificada na parte frontal com uma etiqueta contendo o nome da droga, código do voluntário, SPH, fase, e data do estudo, protegida com fita adesiva transparente;
- Fazer a conferência de todas as amostras que serão enviadas e colocar no Comunicado de Remessa de Amostras (ANEXO 3) a razão pela qual qualquer amostra não seja enviada (drop out, erro operacional, etc);
- A conferência deve ser feita por, no mínimo, duas pessoas em momentos diferentes e os dados cruzados; caso não estejam iguais a conferência é refeita. Após esta conferência e sanada as diferenças, as amostras podem ser enviadas;
- Sobre os tubos das amostras deve ser colocado gelo seco e um termômetro digital ou sensor do mesmo, onde são registradas a temperatura máxima e a temperatura mínima atingidas. O termômetro deve acompanhar as amostras durante o procedimento de envio destas ao laboratório analítico;
- Enviar a caixa térmica ao laboratório acompanhada de um Comunicado de Remessa de Amostra em 3 vias (ANEXO 3). Uma via deve permanecer na Synchrophar, 2 seguem para o laboratório analítico,



Synchronphar

Etapa Clínica		Data operacionalização: 03/09/2007	
		Versão: 02	
POP EC pro 10	Validade: setembro/2008	Página 5 de 12	
Processamento, Armazenamento, Transporte e Envio das Amostras			

sendo que 1 retorna protocolada. As 2 vias da Synchronphar devem ser arquivadas.

A pessoa responsável pela remessa das amostras deve certificar-se de que as amostras chegaram ao laboratório e foram entregues em horário que garanta a presença de responsáveis pelo recebimento.

6.4 Retirada do material:

Quando as amostras são retiradas por um funcionário do laboratório analítico:
As amostras poderão ser retiradas da empresa por um funcionário do laboratório onde será conduzida a etapa analítica. No momento da retirada, este funcionário, junto com o técnico da Synchronphar, responsável pelo envio das amostras, deve:

- Checar o material;
- Preencher e assinar a folha do Comunicado de Remessa de Amostra (ANEXO 3) em 3 vias. Uma via fica na empresa e 2 seguem para o laboratório junto com as amostras.

Na chegada do material ao laboratório analítico, um funcionário deve:

- Checar a temperatura marcada no termômetro que acompanha as amostras;
- Checar as condições das amostras;
- Preencher os campos adequados e assinar as duas vias de remessa que seguiram com a caixa;
- Encaminhar uma das vias para a Synchronphar.



Synchrophar

Etapa Clínica		Data operacionalização: 03/09/2007
		Versão: 02
POP EC pro 10	Validade: setembro/2008	Página 6 de 12
Processamento, Armazenamento, Transporte e Envio das Amostras		

A via do Comunicado de Remessa de Amostras que retorna à Synchrophar é arquivada.



Synchronphar

Etapa Clínica		Data operacionalização: 03/09/2007
		Versão: 02
POP EC pro 10	Validade: setembro/2008	Página 7 de 12
Processamento, Armazenamento, Transporte e Envio das Amostras		

CONTROLE DE REVISÃO

Data	Versão	Revisor	Alteração
04/06/07	01	Roberta G Lopes	Alteração de cabeçalho e revisão no corpo do texto.
09/08/2007	02	Cláudia Cristlana Domingues	Alteração de cabeçalho, atualização e revisão do corpo de texto.

Aprovado por:

Dr. Ney Carter do Carmo Borges
Diretor Clínico

Dr. Ronilson Agnaldo Moreno
Diretor Técnico

Elaborado por:

Revisado/Aprovado por:

Eduardo Orpinelli
Coordenador do Centro

Yara Del António Taveira
Gerente da Qualidade

Synchrophar

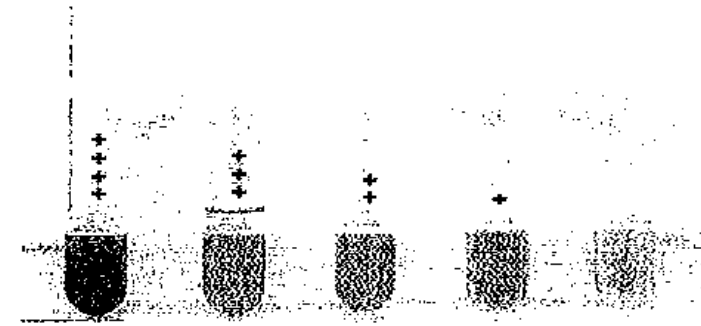
Elapa Clínica		Data operacionalização: 03/09/2007
		Versão: 02
POP EC pro 10	Validade: setembro/2008	Página 9 de 12
Processamento, Armazenamento, Transporte e Envio das Amostras		

ANEXO 2


Tabela de Hemólises

No	Análise de Hemólise	PARTE INTERNA	KABO
021	121	121	121
022	122	122	122
023	123	123	123
024	124	124	124
025	125	125	125
026	126	126	126
027	127	127	127
028	128	128	128
029	129	129	129
030	130	130	130
031	131	131	131
032	132	132	132
033	133	133	133
034	134	134	134
035	135	135	135
036	136	136	136
037	137	137	137
038	138	138	138
039	139	139	139
040	140	140	140
041	141	141	141
042	142	142	142
043	143	143	143
044	144	144	144
045	145	145	145
046	146	146	146
047	147	147	147
048	148	148	148
049	149	149	149
050	150	150	150
051	151	151	151
052	152	152	152
053	153	153	153
054	154	154	154
055	155	155	155
056	156	156	156
057	157	157	157
058	158	158	158
059	159	159	159
060	160	160	160

Diferentes graus de hemólise



[Handwritten signature]



Synchrophar

Etapa Clínica		Data operacionalização: 03/09/2007
		Versão: 02
POP EC pro 10	Validade: setembro/2008	Página 10 de 12
Processamento, Armazenamento, Transporte e Envio das Amostras		

ANEXO 3

COMUNICADO DE REMESSA DE AMOSTRAS AO LABORATÓRIO ANALÍTICO

Comunicamos que estamos enviando amostras para a realização da Etapa Analítica, de acordo com o procedimento operacional padrão da Synchrophar, cujos dados seguem abaixo:

Título do Estudo:		
Droga utilizada no estudo:		Código: SPH
Matriz Biológica: Plasma		Volume: > 1,0 mL
Número total de amostras <u>previstas</u> no estudo:		FASE:
Número total de <u>amostras coletadas / enviadas</u> :		
Número total de <u>amostras perdidas / não coletadas</u> :		
Número de voluntários <i>incluídos</i> no estudo:	MASC:	FEM:
Número de voluntários que <i>concluíram</i> o estudo:		
Houve voluntários Drop out, se sim especificar: () Sim () Não		





Synchrophar

Etapa Clínica	Data operacionalização: 03/09/2007	
	Versão: 02	
POP EC pro 10	Validade: setembro/2008	Página 11 de 12
Processamento, Armazenamento, Transporte e Envio das Amostras		

Descrição de amostras não coletadas / Não enviadas:

Tubos de POOL:

Volume:

Observações:

Tubos criogênicos com tampa vermelha – Fase I
Tubos criogênicos com tampa azul – Fase II
Tubos criogênicos com tampa branca – Fase III.

RETIRADA DA SYNCHROPHAR:

Data:

Hora:

Transportado em: GELO SECO GELO COMUM

Temperatura: DATA LOGGER Nº

Responsável pelo transporte das amostras:

Nome:

Assinatura:


RECEBIMENTO:

Data:

Hora:

Conferido: sim não Temperatura: DATA LOGGER

Responsável pelo recebimento das amostras:



Synchronophar

Etapa Clínica		Data operacionalização: 03/09/2007
		Versão: 02
POP EC pro 10	Validade: setembro/2008	Página 12 de 12
Processamento, Armazenamento, Transporte e Envio das Amostras		

Nome:

Assinatura:

- ✓ OBS 1: O responsável pelo transporte também se responsabiliza pelo termômetro digital que acompanha o recipiente térmico.
- ✓ OBS 2: Após o preenchimento das informações de recebimento das amostras, enviar a segunda via original para SYNCHROPHAR.
- ✓ OBS 3: Após a geração do relatório de temperatura do Data Logger, será encaminhado ao laboratório analítico uma cópia.

