FACULTAT DE MEDICINA – DEPARTAMENT DE SALUT PÚBLICA

TESI DOCTORAL

CONCORDANÇA:

NOUS PROCEDIMENTS I APLICACIONS

Josep Lluís Carrasco Jordan

TESI DOCTORAL

UNIVERSITAT DE BARCELONA

FACULTAT DE MEDICINA – DEPARTAMENT DE SALUT PÚBLICA

Programa de doctorat: Biometria i estadística. Bienni 1999-2001

CONCORDANÇA:

NOUS PROCEDIMENTS I APLICACIONS

Memòria presentada per en Josep Lluís Carrasco i Jordan per optar al títol de doctor per la Universitat de Barcelona sota la direcció del doctor Lluís Jover.

VIST I PLAU

El director de la tesi

Dr. Lluís Jover Armengol

Professor Titular de la Facultat de la Medicina. Universitat de Barcelona.

Índex

AGRAÏMENTS

Per explicar la història d'aquesta tesi ens hem d'anar fins la tardor de l'any 1995, quan al Lluís se li van creuar els cables i em va cridar per col·laborar amb ell en un projecte de quatre mesos. Quantes vegades t'has penedit, Lluís? El projecte estava relacionat amb l'error de mesura i la concordança dels analitzadors automàtics i va ser aquí quan vam començar a treballar amb el tema d'aquesta tesi, clar que aleshores no ho sabíem. Des d'aleshores fins ara tot el que s'ha fet ha estat gràcies a en Lluís, a la seva visió i forma de treballar que ha intentat transmetre'm (espero que amb èxit). Per tant el primer i més gran agraïment ha de ser per en Lluís, el meu Mestre i autèntica *alma mater* d'aquesta tesi.

També unes paraules d'agraïment per la Rosa Abellana, que m'ha suportat en els darrers cinc anys que hem compartit despatx, alegries i penes. Gràcies Rosa.

A tothom del departament de Salut Pública i del Departament d'Estadística de la Universitat de Barcelona que d'una manera o d'altra ha col·laborat per a dur a bon port aquesta tesi, i de manera especial a la Geòrgia i al Jaume que han viscut el dia a dia de la tesi, i al Dr. Ricard Tresserres que sempre ha estat disposat a donar un cop de mà.

També vull agrair a l'Albert Cobos les converses instructives que hem mantingut al llarg dels últims anys i que m'han ajudat a aclarir dubtes i problemes.

A en Quim Barris i la seva companya Maria, que m'ha donat un cop de mà en l'estil de la tesi. Espero que no trobis gaires incorreccions en aquests agraïments.

A l'Héctor i la Núria de Saragossa perquè les estades amb ells sempre han estat molt estimulants.

També gràcies a l'Àlex i i la Inma amb els que he compartit molts bon moments que m'han ajudat a carregar pil·les.

A Joan Gaspart, perquè gràcies a la seva gestió el meu interès pel futbol ha anat minvant en els darrers tres anys deixant-me el temps suficient per poder concloure la tesi.

Gràcies als Bicharracos, equip de futbol-sala de Montbau que ha servit de vàlvula d'escapament. ¡Ánimo Bichos, de derrota en derrota hasta la victória final!. Gràcies també a la Serra de Collserola,

perquè tot anant en mountain-bike pels seus camins se'm van ocórrer algunes de les idees que es troben a la tesi.

Per haver-me ajudat a superar tots els tràngols que m'he trobat en aquesta aventura, gràcies a: El Jueves, als Monty Pyton, als programes del Buenafuente, a l'Sport i la seva informació "objectiva", a Quino i Mafalda, a Astèrix i Obèlix, a en Tintín i llamp de llamp no m'oblidaré pas d'en Capità Haddock.

Al Dr. Watson i les seves visites inesperades sempre en el "millor" moment.

Als meus pares i a la meva àvia Rita per l'esforç que han fet tota la vida per a que el dròpol del seu fill i net fes alguna cosa de profit.

A Buck, l'Alaskan Malamute dels meus pares i el llepador més ràpid que he conegut (sempre que ell vulgui, és clar).

A Teresa, la meva companya, que mai m'ha deixat que em dormís als llorers i sempre m'ha recolzat. Ella és la motivació de tot plegat.

CAPÍTOL 1

INTRODUCCIÓ

Fiabilitat i concordança dels mètodes de mesura

La fiabilitat dels mètodes de mesura és un aspecte fonamental per a garantir la qualitat de tota activitat basada en la presa de decisions mitjançant les valoracions provinents d'aquests mètodes. Les Ciències de la Salut són una d'aquestes activitats on contínuament es prenen decisions derivades dels resultats d'algun tipus de mesura, ja sigui, per exemple, la valoració subjectiva del professional de la salut a partir d'una placa de tòrax, o el diagnòstic d'un pacient derivat dels resultats d'una analítica. Aquest fet fa necessari que el professional tingui una certa seguretat en els mètodes que utilitza per que la pràctica mèdica sigui eficient.

El principal problema que es pot derivar d'un mètode de mesura no fiable és, sens dubte, la classificació o diagnòstic incorrectes d'un pacient, però el fet de què es mesuri amb error també provoca que s'observin associacions atenuades entre variables, per exemple entre una malaltia i un factor de risc, o el fet que la potència dels contrasts d'hipòtesi sigui inferior a la desitjada o estimada en principi (Fleiss, 1986). Així doncs, per estudiar la fiabilitat d'un mètode de mesura és necessari mesurar repetides vegades la característica que es desitja valorar a un set de mostres o individus susceptibles de tenir la característica en qüestió. Sota aquest disseny, el model de mesura subjacent que genera les dades observades es pot definir com

$$X_{ij} = \alpha + \beta X_i^* + e_{ij}$$

on X_{ij} correspon a la mesura j-èssima realitzada sobre l'individu i-èssim, X_i^* representa la mesura real desconeguda de l'individu i-èssim i e_{ij} és la variació aleatòria que es produeix en realitzar cada mesura i que habitualment s'assumeix centrada a zero. Si $E(X_{ij}) = X_i^*$ es considera que el mètode de mesura no té biaix i per tant se'l qualifica de vàlid. Per tant α i β es relacionen amb l'exactitud del mètode, on α expressa el biaix sistemàtic constant mentre que β indica el biaix sistemàtic proporcional. A mode d'exemple podríem imaginar una balança que sistemàticament mesura 2 kg de més (biaix constant) o que sistemàticament dona 1,5 vegades més que el pes real (biaix proporcional). Naturalment el biaix sistemàtic pot ser corregit si es disposés informació sobre X_i^* mitjançant un mètode lliure d'error (*gold standard*). L'acte de corregir el biaix sistemàtic és conegut com a calibració de l'instrument de mesura.

D'altra banda, l'error aleatori e_{ij} es relaciona amb la precisió de l'instrument donat que ens informa de la variació de les mesures al voltant del valor real X_i^*. Així un instrument lliure d'error haurà de ser exacte (sense biaixos) i amb una variabilitat de l'error de mesura igual a zero. Òbviament aquesta situació és força ideal de manera que per considerar un mètode fiable serà suficient que es caracteritzi per manca de biaix sistemàtic i que la variabilitat de l'error es mantingui dintre d'uns límits acceptables.

Una altra qüestió és la intercanviabilitat entre mètodes de mesura, és a dir, la concordança entre diferents mètodes. Independentment de si els mètodes són fiables o no, és interessant considerar les implicacions que pot tenir la substitució d'un mètode de mesura per un altre. Per exemple, es va estudiar les implicacions que tenia el canvi d'un esfigmomanòmetre manual per un d'automàtic respecte a l'estimació puntual de la prevalença d'hipertensió (Pardell et al., 2001), arribant-se a la conclusió que amb l'aparell automàtic l'estimació puntual augmentava un 3% (19% amb l'aparell manual, 22% amb l'aparell automàtic). La concordança entre instruments de mesura també es pot descompondre en exactitud i precisió, on l'exactitud vindria representada per la igualtat de mitjanes entre ambdós mètodes, és a dir, que en mitjana mesurin el mateix. Pel que fa a la precisió, des d'un punt de vista estricte seria necessari que els instruments no presentessin error de mesura, però aquesta situació és irreal, sent suficient que els errors de mesura siguin similars i dintre d'uns límits tolerables que facin que l'error sigui menyspreable.

Tant per mesurar la fiabilitat d'un mètode com la intercanviabilitat entre instruments de mesura sovint les tècniques estadístiques acostumen a ser les mateixes, diferenciant-se en el matís de que en el primer cas es vol mesurar com concorda un instrument amb ell mateix mentre que en el segon cas es vol avaluar com concorden diferents mètodes de mesura. Aquestes tècniques es poden classificar, a gran trets, com a "agregades" o "desagregades", tot depenent de com es du a terme l'avaluació de la concordança. Així, un procediment agregat valora la concordança globalment mitjançant un índex o coeficient, en canvi un procediment desagregat es caracteritza per estudiar la concordança valorant per separat cadascun dels errors que es poden produir en mesurar.

Els procediments per a avaluar la concordança també varien en funció de la naturalesa de les dades i de l'escala de mesura, de forma que existeixen procediments diferents segons es tracti de dades qualitatives o quantitatives.

Concordança amb dades qualitatives

El coeficient més popular per a mesurar la concordança entre mètodes de mesura en una escala qualitativa és el coeficient *kappa* (Cohen, 1960). Per descriure aquest coeficient suposem que dos instruments, A i B, mesuren a una sèrie d'individus una característica qualitativa en escala nominal, per exemple, "Normal" i "Patològic". Definim π_{ij} com la probabilitat de que quan l'avaluador A mesura *i*, l'avaluador B mesuri *j*. El coeficient *kappa* es defineix com

$$\kappa = \frac{\sum \pi_{ii} - \sum \pi_{i+}\pi_{+i}}{1 - \sum \pi_{i+}\pi_{+i}}$$

on π_{i+} i π_{+i} representen les probabilitats marginals de cada avaluador. Aquest índex compara la probabilitat total de concordança respecte l'esperada per atzar, i es reescala de forma que un valor d'1 implica concordança perfecta mentre que un valor de 0 significa que els avaluadors mesuren de forma independent. Aquest índex representa una mesura agregada donat que valora la concordança entre avaluadors mitjançant un únic valor.

S'han realitzat altres versions del coeficient *kappa* (Bloch and Kraemer, 1989), però una menció especial es mereix la versió per a variables ordinals. Quan la característica es mesurada en una escala ordinal la discordança entre les categories no té la mateixa importància, és a dir, hi ha un gradació de la discordança. Aquesta heterogeneïtat de la importància de la discordança es recollida pel coeficient *kappa* mitjançant pesos, sent conegut el coeficient com a *weighted kappa*. Aquests pesos es troben relacionats amb la distància entre les categories.

Una característica del coeficient *kappa* és la seva dependència de la prevalença de cada categoria, de forma que un mateix procediment de diagnòstic pot donar coeficients *kappa* diferents depenent de a quina població sigui aplicat. Alguns autors qualifiquen aquesta característica com un inconvenient, però també es pot entendre com que el coeficient *kappa*, i la majoria dels procediments agregats, depenen fortament de la població mesurada. Per tant s'hauria de recomanar que un estudi de concordança no es limiti tan sols al càlcul d'un índex sinó que també vagi acompanyat de les característiques de la població d'estudi.

Per a mesurar la concordança desagregadament Agresti (1992) proposa diferenciar entre els conceptes de diferenciació de les categories i absència de biaix. La capacitat de diferenciar entre categories es mesura mitjançant la força de l'associació entre els avaluadors, per tant es troba relacionat amb el concepte de precisió. La força de l'associació es pot mesurar mitjançant l'*odds* concordança/discordança, $\pi_{ij} = \pi_{ii}\pi_{jj} / \pi_{ij}\pi_{ji}$, el coeficient de correlació de

Pearson (Shoukri, 1998) o amb alguna mesura derivada de l'estadístic χ^2 de Pearson com el coeficient de contingència. Pel que fa a l'absència de biaix, aquest es dóna quan les distribucions marginals de cada avaluador són diferents, $\pi_{i+} \neq \pi_{+i}$. La manca de biaix està relacionat amb el concepte d'exactitud entre avaluadors.

Procediments desagregats més sofisticats són aquells basats en la modelització dels patrons de concordança (Agresti, 1992) mitjançant models log-lineals i models de variables latents. Aquests últims són especialment útils per a mesurar la fiabilitat d'un mètode de mesura donat que modelitzen directament la relació entre la resposta observada i la vertadera resposta.

Un altre tipus de concordança amb variables ordinals és la coneguda com "concordança monotònica". Aquest tipus de concordança es dona quan el nombre de nivells de l'escala de mesura coincideix amb el nombre de subjectes que han de ser mesurats, de forma que els avaluadors assignen un valor ordinal a cada individu, parlant-se en aquests cas de concordança entre rangs. L'estadístic més utilitzat en aquests tipus de concordança és la τ de Kendall i la γ de Goodman i Kruskal (Dunn, 1989).

Concordança amb dades quantitatives

La tècnica estadística per mesurar la concordança entre variables quantitatives més utilitzada és el coeficient de correlació intraclasse. L'origen d'aquest coeficient es remunta al segle XIX quan Sir Francis Galton (1887) introduí el terme de regressió per a definir la relació de les mesures entre individus de la mateixa família (pares i fills, germans, etc.). Galton va definir el coeficient de correlació intraclasse com la correlació de tots els parells de germans possibles. Pearson (1896) va proposar l'estimador basat en el producte de moments de la mostra, però va ser Fisher (1925) qui proposà l'estimador del coeficient de correlació intraclasse utilitzant els components de la variància, definint-se el coeficient com la ratio entre la variabilitat entre *clusters* sobre la variabilitat total. Això fa que l'expressió del coeficient de correlació intraclasse tingui una gran dependència sobre el disseny de recollida de les dades i el model de mesura subjacent que s'assumeix que les genera. Per tant, el coeficient de correlació intraclasse no tindrà la mateixa expressió per a mesurar la fiabilitat d'un mètode de mesura que si el que es desitja es avaluar la concordança entre instruments de mesura. El coeficient de correlació intraclasse pren valors entre 0 i 1, on un valor de 0 implica que no hi ha variabilitat entre individus i per tant tota la variabilitat de les dades prové de la variabilitat intra-individu. En canvi un valor d'1 significa que tota la variabilitat de les dades és deguda a la variabilitat entre individus, és a dir, al fet que els individus són diferents.

Un altre procediment agregat que en els darrers anys ha guanyat popularitat és el coeficient de concordança definit per Lin (1989). Aquest coeficient es basa en la desviació quadràtica mitjana entre els mètodes, $E\left[(Y_1 - Y_2)^2\right]$, en què Y_1 i Y_2 representen el vector de mesures de cada mètode. Lin defineix el coeficient com

$$\rho_C = 1 - \frac{E\left[(Y_1 - Y_2)^2\right]}{E\left[(Y_1 - Y_2)^2 \mid Y_1, Y_2 \text{ no covarien}\right]} = \frac{2\sigma_{12}}{\sigma_1^2 + \sigma_2^2 + (\mu_1 - \mu_2)^2}$$

en què μ_1 ,μ_2, σ_1^2, σ_2^2 i σ_{12} són les mitjanes, variances i covariança dels mètodes de mesura.

A l'igual que el coeficient de correlació intraclasse, el coeficient de concordança és un procediment agregat depenent de la variabilitat entre individus (covariança entre mètodes de mesura). Aquest fet ha estat criticat (Atkinson and Neville, 1997) ja que aquests coeficients poden variar significativament segons el rang de valors considerat de la variable en estudi. En realitat aquest fet és similar a la relació entre el coeficient *kappa* i la prevalença dels nivells de la variable qualitativa. Per tant l'investigador no hauria de basar l'avaluació de la concordança únicament en el càlcul d'un coeficient sinó que aquest hauria acompanyat d'informació sobre la població en la qual s'està realitzant l'assaig de concordança.

Lin (1989) també expressa el coeficient de concordança en funció del coeficient de correlació de Pearson entre Y_1 i Y_2, de forma que l'anàlisi de concordança es pot fer de forma desagregada. El coeficient de correlació mesuraria la manca de precisió i la resta de l'expressió es podria utilitzar com un indicador de la manca d'exactitud.

La metodologia desagregada més utilitzada en relació amb dades quantitatives són els model factorials confirmatoris i els models d'equació estructural (Dunn, 1989). Aquests models intenten estimar el model de mesura subjacent relacionant les mesures observades amb les variables latents o no observables que representen les verdaderes mesures. Aquests models permeten obtenir tant estimacions del biaix sistemàtic com de la variabilitat dels errors de mesura. L'anàlisi factorial confirmatori s'utilitza per a estudiar la fiabilitat d'un mètode, mentre que el model d'equació estructural es útil per a avaluar la concordança entre diferents mètodes de mesura.

Altres procediments per a variables continues han estat definits, entre els quals es pot trobar mètodes més exploratoris com el proposat per Bland i Altman (1986), o d'altres basats en estimar entre quin valors de $D = Y_1 - Y_2$ es troba un cert percentatge de la població. Aquests darrers procediments són coneguts com a *probability-based*, entre els quals es pot destacar la utilització d'intervals de tolerància (Esinhart and Chinchilli, 1994) i el *total deviation index* (Lin, 2000).

Objectiu i estructura de la tesi

L'objectiu d'aquesta tesi doctoral es centra en l'estudi dels procediments de concordança per variables quantitatives i la seva aplicació en problemes biomèdics concrets. Així, el capítol 1 inclou un article on es recull alguns dels procediments mencionats per mesurar concordança. L'objectiu de l'article és que el professional de la medicina s'apercebi de la importància de tenir mesures fiables i les implicacions que pot tenir la intercanviabilitat entre mètodes de mesura que no concorden. El capítol 2 està composat per dos articles, en el primer el coeficient de correlació intraclasse i el coeficient de concordança són comparats, demostrant-se que tots dos són dues expressions diferents del mateix índex. En el segon article d'aquest capítol s'estudia l'estimació del coeficient de correlació intraclasse quan la variable resposta és un recompte. El capítol 3 inclou dos articles on s'assaja la utilitat dels models d'equació estructural en l'avaluació d'una qüestió biomèdica com és la bioequivalència individual. Finalment, en el capítol 4 es troben les principals conclusions derivades dels resultats de la tesi.

Métodos estadísticos para evaluar concordancia entre medidas

Josep Lluís Carrasco y Lluís Jover

Bioestadística. Departament de Salut Pública. Universitat de Barcelona

Casanova, 143 08036 Barcelona

Resumen

La fiabilidad y la concordancia de los instrumentos de medida es un aspecto fundamental en las Ciencias de la Salud y que no siempre se tiene presente. En este documento se destacan las implicaciones que puede tener el uso de instrumentos sujetos a error y el intercambio de instrumentos de medida cuyas mediciones no concuerdan. Estas implicaciones son ilustradas mediante ejemplos en los que se pone de manifiesto el efecto confusor que puede producir el error de medida.

A lo largo del documento se proponen diversos procedimientos para evaluar la concordancia e identificar las fuentes de error. Estos procedimientos son clasificados según la naturaleza de los datos, cualitativos o cuantitativos, así como en el modo en que se evalúa la concordancia, de una forma agregada mediante un valor o desagregadamente analizando por separado las fuentes de error.

Mediante estos procedimientos se pone de manifiesto que técnicas que frecuentemente son utilizadas para evaluar concordancia como la comparación de medias, el coeficiente de correlación o el modelo de regresión resultan insuficientes o incorrectas.

Palabras Claves: Concordancia, error de medida, fiabilidad.

Introducción

Garantizar la calidad de los procedimientos de medida es un aspecto fundamental en la investigación biomédica y, en general, en la práctica clínica. Aunque todo el mundo respondería afirmativamente, al menos eso nos gusta creer, a la pregunta de si la calidad de los datos es un aspecto que debe siempre ser considerado, en realidad es muy común asumir que los procedimientos de medida funcionan razonablemente bien (alguien se debe estar ocupando de ello) y, por tanto, no hay de que preocuparse. En ámbitos regulados como es el caso de los ensayos clínicos para el desarrollo de fármacos, la calidad de los datos en general, y la de los procedimientos de medida en particular, recibe la merecida atención tanto por razones éticas como de eficiencia.

También en la práctica médica la calidad de las medidas es un aspecto básico para conseguir un sistema de salud eficiente. Cuando un médico establece el diagnóstico de un paciente basándose en el resultado obtenido mediante un instrumento de medida, debería estar seguro de que el error de medida es razonablemente pequeño. Las medidas pueden obtenerse a través de algún instrumento cuyos resultados ayuden al profesional en la toma de decisiones (como los resultados analíticos), o mediante observación directa del paciente y evaluación subjetiva por parte del médico (como la puntuación APGAR). Por lo tanto, un método de medida puede ser tanto un instrumento como un evaluador, o incluso la combinación de ambos.

Hablar de calidad de los procedimientos de medida equivale a referirse a la magnitud de los errores de medida inherentes al procedimiento, entendiéndose que a mayor calidad de medida menor magnitud de los errores y viceversa. Simplificando, podemos afirmar que existen dos tipos de error de medida: error sistemático y error aleatorio. El error sistemático es aquel que se presenta siempre de la misma forma, "sistemáticamente". Por ejemplo, si cinco personas cuyos pesos reales son 49, 63, 78, 81 y 94 Kg se pesan con una báscula obteniendo las lecturas 51, 65, 80, 83 y 96 Kg, la báscula estaría afectada de error sistemático. En este caso se trataría de un error sistemático constante de +2 Kg. En otros casos, el error sistemático puede ser proporcional al valor real (por ejemplo, errores de +1%, en cuyo caso el valor observado = valor real x 1,01) y también es posible que se den ambos tipos, constante y proporcional, simultáneamente (por ejemplo, valor observado = valor real x 1,01 + 2). A diferencia de lo que ocurre con los errores sistemáticos, los errores aleatorios son impredecibles. Aunque a larga puedan seguir un patrón conocido, no es posible predecir en qué medida (ni en qué sentido) ocurrirán en una observación concreta.

La presencia de error en las medidas provoca numerosos problemas[1], entre los que cabe destacar los errores de clasificación y la atenuación de las asociaciones. Veamos un ejemplo para ilustrar estos dos problemas. El estudio de las características de las pruebas diagnósticas es un territorio en el que la importancia de los errores de clasificación es especialmente manifiesta. Lo que habitualmente denominamos error de una prueba diagnóstica no es más que un caso particular de error de medida: el estado real del sujeto, tiene o no tiene la patología sospechada, es la característica que deseamos conocer (medir) y la prueba diagnóstica es el procedimiento de medida que vamos a utilizar. El resultado que obtenemos de aplicar esta prueba diagnóstica es la medida del estado real del sujeto. Imaginemos que, en un conjunto de 1000 individuos se valora la presencia de cierta patología mediante una prueba diagnóstica cuyo resultado es dicotómico (Positivo o Negativo) y que 100 de estos individuos tienen realmente la patología y los 900 restantes están libres de ella. Por último, supongamos

que, como es habitual, el método de diagnóstico está sujeto a error y que la tasa de falsos negativos es del 10% y la de falsos positivos es del 20%. Tal como se ilustra en la tabla I, esto supondría que, de los 100 individuos patológicos, 10 serían clasificados incorrectamente como no patológicos, mientras que de los 900 no patológicos, 180 serían considerados patológicos. Por lo tanto, utilizando el resultado de la prueba diagnóstica como medida del estado real, se consideraría que el número de sujetos patológicos es de 270 en lugar de 100.

Veamos ahora un ejemplo donde el error de medida, en este caso error de diagnóstico o clasificación, induce una atenuación en la asociación con otra variable. Deseamos estudiar la asociación entre la Patología y un cierto factor de riesgo. Supongamos ahora que la proporción de enfermos que presentan el factor de riesgo es del 20% mientras que esta proporción es de sólo el 5% en el grupo no patológico. De igual modo que en el ejemplo anterior, asumiremos que las proporciones se cumplen perfectamente. En primer lugar estimaremos la asociación utilizando una prueba diagnóstica libre de error y posteriormente utilizando la prueba diagnóstica con error de clasificación, comparando los resultados obtenidos en ambas situaciones. Si se utiliza una prueba libre de error para clasificar a los individuos se observarán 100 individuos con la patología y 900 libre de ella. Si a este número de individuos se les aplican las proporciones relacionadas con el factor de riesgo se obtendrán las frecuencias representadas en la Tabla II. La asociación entre la Patología y el factor de riesgo se medirá mediante el *odds ratio*, que toma un valor de $\mathrm{OR} = (20 \times 855)/(45 \times 80) = 4{,}75$.

Hacemos notar al lector que en esta tabla está implícito el hecho de que estamos midiendo dos variables: patología y factor de riesgo. Para simplificar el ejemplo asumiremos que el factor de riesgo es una característica que podemos medir sin error.

Tabla I. Ejemplo de tabla de contingencia entre una patología y una prueba diagnóstica. La patología debe entenderse con el valor real del atributo que se desea medir, mientras que la prueba es el valor observado al aplicar un determinado método de medida

		Patología		
		Sí	No	
Prueba	Positiva	90	180	270
	Negativa	10	720	730
		100	900	1000

Tabla II. Ejemplo de tabla de contingencia entre una patología y un factor de riesgo. La patología es medida mediante un instrumento libre de error.

		Patología		
		Sí	No	
Factor de riesgo	Positivo	20	45	65
	Negativo	80	855	935
		100	900	1000

Ahora repitamos el ejemplo utilizando la prueba diagnóstica con error de clasificación. De los 270 individuos del grupo patológico 90 tienen realmente la enfermedad mientras que 180 están libre de ella (Tabla I). De esos 90 un 20% presentarán el factor de riesgo, es decir, 18. En cambio, de los 180 sólo un 5% tendrán el factor de riesgo, lo que representa 9 individuos. Esto supone que de los 270 individuos clasificados como patológicos un total de $18+9=27$ presentan el factor de riesgo. ¿Qué ocurre con los 730 individuos clasificados como no patológicos? De éstos, 10 tienen la enfermedad mientras que 720 no (Tabla I). De los 10 un 20% presentarán el factor de riesgo, es decir, 2 individuos. De los restantes 720 un 5% tendrán el factor de riesgo, lo que supone 36 sujetos. De este modo, en el grupo de los clasificados como no patológicos un total de $2+36=38$ individuos presentarán el factor de riesgo. Este proceso se resume en la Tabla III. Ahora el *odds ratio* toma un valor de $OR=(27\times692)/(38\times243)=2{,}02$, aproximadamente la mitad del valor obtenido anteriormente, lo que significa que se ha producido una considerable atenuación de la verdadera asociación, subestimación enteramente provocada por el error de medida de la prueba diagnóstica.

Tabla III. Ejemplo de tabla de contingencia entre una patología y un factor de riesgo. La patología es medida mediante un instrumento con error

		Patología		
		Sí	No	
Factor de riesgo	Positivo	27	38	65
	Negativo	243	692	935
		270	730	1000

De los resultados mostrados en estos ejemplos se deduce la necesidad de valorar la calidad de cualquier método o procedimiento de medida que utilicemos. Evaluar la calidad del procedimiento o instrumento de medida conlleva analizar comparativamente nuestra serie de mediciones con otra(s), las cuales pueden ser de distinto origen y características dependiendo de los objetivos planteados en la valoración, tal y como se resume en la tabla IV .

Tabla IV. Clasificación de estudios para la evaluación de la calidad de los procedimientos de medida.

OBJETIVOS BÁSICOS DE LA EVALUACIÓN	SERIES UTILIZADAS PARA LA COMPARACIÓN	DENOMINACIÓN DEL ESTUDIO
-evaluar independencia de los errores -estimar la magnitud del error aleatorio	Valores obtenidos con el mismo procedimiento o instrumento de medida	Fiabilidad Repetibilidad
- decidir si un instrumento puede reemplazar a otro - evaluar si ambos instrumentos son intercambiables (no hay ninguna diferencia en utilizar uno u otro)	Valores obtenidos con un procedimiento o instrumento de medida alternativo	Concordancia
-cuantificar el error de medida -estimar los parámetros que han de permitir corregir el error de medida	Valores reales de la variable o atributo (p.ej. obtenidos mediante un método de referencia)	Calibración

Cualquier comparación entre dos (o más) series de mediciones es susceptible de ser evaluada en términos de concordancia entre las series, esto es, verificar si ambas series concuerdan (son idénticas), o no, y en que grado, aunque el uso de esta denominación indica habitualmente que se están analizando comparativamente dos instrumentos de medida distintos. En cualquier caso, parece obvio que cuanto menor sea el error de medida en ambas series mayor será la concordancia, y viceversa. En el caso extremo y poco realista de dos series sin error de medida, su concordancia será forzosamente perfecta.

Retomando el esquema de la tabla IV, los estudios de Fiabilidad o Repetibilidad intentan evaluar cómo concuerdan las medidas obtenidas por un único método o instrumento, utilizado de forma repetida. Por ejemplo, podríamos utilizar varias veces un mismo analizador automático para contar el número de CD4, procesando alícuotas de la misma muestra de sangre, o podríamos pedir a un mismo médico que evaluase una misma imagen en varias ocasiones. En estos casos, el aspecto que se estaría evaluando es el error de medida del método mediante el estudio de la concordancia intra-método, de forma que si las medidas tomadas con el mismo método concuerdan se puede declarar al método libre de error aleatorio calificándolo de "repetible". En los denominados estudios de Concordancia, se verifica cómo concuerdan las medidas obtenidas por el método cuya calidad se desea valorar, con las obtenidas por otro método. Por ejemplo, podríamos utilizar dos analizadores automáticos distintos para contar el número de CD4 de una muestra, o podríamos pedir a dos clínicos que valorasen una misma imagen. En estos casos estaríamos evaluando la concordancia entre métodos de medida, con el objetivo de determinar si los dos métodos son intercambiables, de forma que sea indiferente utilizar uno u otro. Por último, la calibración de un método de medida es un caso particular de concordancia entre métodos. Este ensayo se realiza cuando se comparan un procedimiento de medida con los valores reales de los sujetos. De hecho, el valor real es imposible de determinar y en estos ensayos se comparan dos métodos de medida, siendo uno de ellos utilizado como método de referencia o patrón (*gold standard)* para lo que se asume que está libre de error de medida. En este caso, la comparación del método en estudio con el patrón permite estimar los posibles errores, sistemáticos y aleatorio, del primero. Una vez estimados, cualquier lectura futura obtenida con el método en estudio puede corregirse y quedar exenta de error sistemático. Este ejercicio se conoce como calibración de un método de medida. Lamentablemente, la naturaleza impredecible de los errores aleatorios hace que sea imposible corregirlos, tal como se hace con los errores sistemáticos. Puesto que los errores sistemáticos tienen arreglo (calibrando) y los aleatorios no, ambos tipos de error no son igualmente temibles.

En cualquier caso, la presencia de errores en las medidas es la responsable de que no exista concordancia perfecta entre distintos instrumentos o procedimientos de medida. De hecho, cuanto más error, menos concordancia y viceversa. Así, estudiar la concordancia es una manera de evaluar el error de medida y por ello nos centraremos en ofrecer al lector una panorámica de los métodos más habituales para el estudio de la misma.

En general, las técnicas para evaluar concordancia se pueden clasificar entre agregadas y desagregadas. Los procedimientos desagregados evalúan las distintas componentes de la falta de concordancia por separado, mientras los procedimientos agregados valoran la falta de concordancia en global, sin distinguir entre error sistemático y error aleatorio. Una medida agregada será útil para una evaluación rápida del grado de concordancia sin entrar en las fuentes de error que causan la falta de concordancia. En cambio, un análisis desagregado analizará más detalladamente las posibles fuentes de error.

Las técnicas utilizadas también variarán según la naturaleza de las variables, dependiendo de si las medidas corresponden a una escala de medida cualitativa o cuantitativa.

Concordancia entre variables cualitativas

Supongamos que un médico realiza habitualmente una clasificación diagnóstica (positivo o negativo) basándose en su particular apreciación de las características de una imagen radiológica. Independientemente de cómo llega a realizar la valoración, el método de medida es el propio médico que estaría realizando medidas en escala nominal (dicotómica). En esta situación podría ser interesante valorar tanto el error de medida del médico (concordancia intra-método) como la discrepancia en el diagnóstico en relación con otro profesional (concordancia entre métodos). En ambos casos el procedimiento será similar, ya que la primera situación es equivalente a realizar una concordancia entre diferentes mediciones efectuadas con un único método. Veamos la situación en el caso de desear estimar la concordancia entre dos métodos.

Los datos obtenidos de *n* pacientes pueden ser resumidos en una tabla de contingencia 2x2 (Tabla V).

Tabla V. Tabla de contingencia referente a las mediciones que realizan dos evaluadores sobre una serie de individuos.

		Evaluador B	
		Positivo	Negativo
Evaluador A	Positivo	n_{11}	n_{12}
	Negativo	n_{21}	n_{22}

En principio parece lógico que la concordancia sea evaluada mediante la proporción de casos en que los dos evaluadores coinciden, $(n_{11}+n_{22})/n$, pero se ha de tener en cuenta que parte de esta coincidencia es exclusivamente atribuible al azar. Cohen[2] dio la expresión de un índice de concordancia corregido por el efecto del azar y reescalado de forma que tomase un valor máximo de 1. Este índice es conocido como el coeficiente *kappa* y su expresión es

$$\kappa = \frac{\pi_{11}+\pi_{22}-\pi_{1\bullet}\pi_{\bullet 1}-\pi_{2\bullet}\pi_{\bullet 2}}{1-\pi_{1\bullet}\pi_{\bullet 1}-\pi_{2\bullet}\pi_{\bullet 2}}$$

donde

$$\pi_{11}=\frac{n_{11}}{n},\ \pi_{22}=\frac{n_{22}}{n},\ \pi_{1\bullet}=\frac{n_{11}+n_{12}}{n},\ \pi_{2\bullet}=\frac{n_{21}+n_{22}}{n},\ \pi_{\bullet 1}=\frac{n_{11}+n_{21}}{n}\ \text{y}\ \pi_{\bullet 2}=\frac{n_{22}+n_{12}}{n}.$$

En caso de concordancia perfecta el coeficiente tomará el valor 1, y si las valoraciones de los dos métodos de medida son independientes el coeficiente será 0. Como puede observarse, el coeficiente *kappa* es un procedimiento agregado, ya que mide la concordancia globalmente, sin distinguir entre los componentes de exactitud y precisión.

Si se desea evaluar la concordancia de forma desagregada en error sistemático y error aleatorio el coeficiente de correlación[3] ha sido propuesto para medir la asociación (error aleatorio) entre los dos evaluadores. La expresión del coeficiente de correlación para la tabla 2x2 es

$$\rho = \frac{\pi_{11}\pi_{22}-\pi_{12}\pi_{21}}{\sqrt{\pi_{1\bullet}\pi_{2\bullet}\pi_{\bullet 1}\pi_{\bullet 2}}}$$

donde un valor de 1 indicaría ausencia de error aleatorio. También se ha propuesto[3] analizar el error sistemático entre los dos métodos mediante el estudio de la diferencia entre las proporciones marginales., $\pi_{1\bullet}, \pi_{2\bullet}, \pi_{\bullet 1}, \pi_{\bullet 2}$. Estas proporciones indican la probabilidad de cada método de realizar un diagnóstico positivo o negativo, considerándose que no existe error sistemático entre evaluadores si $\pi_{1\bullet}=\pi_{\bullet 1}$ y $\pi_{2\bullet}=\pi_{\bullet 2}$. En el caso de una tabla 2x2 estas proporciones pueden compararse utilizando una prueba de McNemar[4] .

Se ha demostrado[5] que el coeficiente *kappa* puede ser expresado como

$$\kappa = \frac{2\rho\sqrt{\pi_{1\bullet}\pi_{2\bullet}\pi_{\bullet 1}\pi_{\bullet 2}}}{\pi_{1\bullet}\pi_{\bullet 2}+\pi_{\bullet 1}\pi_{2\bullet}}$$

donde puede observarse que si no existe error sistemático entre observadores, $\pi_{1\bullet}=\pi_{\bullet 1}$ y $\pi_{2\bullet}=\pi_{\bullet 2}$, el coeficiente *kappa* coincide con ρ, es decir, la única causa de discordancia es el error aleatorio.

El coeficiente *kappa* puede ser generalizado para el caso en que la escala de medida tenga más de 2 categorías. En tal caso, la expresión del coeficiente para una escala de medida nominal de *c* categorías es

$$\kappa = \frac{\sum_{j=1}^{c}\left(\pi_{jj} - \pi_{j\bullet}\pi_{\bullet j}\right)}{1-\sum_{j=1}^{c}\pi_{j\bullet}\pi_{\bullet j}}$$

La escala de medida también puede ser ordinal, por ejemplo, una valoración de la evolución de un paciente en la escala: "Empeora, Sigue igual, Mejora". En esta situación, es lógico pensar que no debe valorarse igual una discordancia "Sigue igual *versus* Mejora" que una discordancia "Empeora *versus* Mejora", ya que en este último caso la discordancia es más grave. Con el objetivo de tener en cuenta esta gradación de la discordancia se introdujo el coeficiente *kappa* ponderado[6], de forma que se asignan distintos pesos a la discordancias de acuerdo con la magnitud de las mismas. Por último, se ha demostrado que el coeficiente *kappa* tiene una gran dependencia de la prevalencia de la patología o característica que se está evaluando, por ello se ha considerado que no es apropiado comparar coeficientes *kappa* que han sido calculados en poblaciones con distinta prevalencia de la característica en estudio[7].

Ejemplo

Se aplican dos pruebas diagnósticas a un grupo de 51 pacientes cuyos resultados se resumen en la tabla VI.

Tabla VI Ejemplo de tabla de contingencia referente a los resultados de dos pruebas diagnósticas aplicadas a una serie de individuos.

		Prueba B		
		Positivo	Negativo	
Prueba A	Positivo	19	16	35
	Negativo	1	15	16
		20	31	51

Las estimaciones de las proporciones son

$\hat{\pi}_{11} = \frac{19}{51} = 0.3725$, $\hat{\pi}_{22} = \frac{15}{51} = 0.2941$, $\hat{\pi}_{12} = \frac{16}{51} = 0.3137$, $\hat{\pi}_{21} = \frac{1}{51} = 0.0196$,

$\hat{\pi}_{1\bullet} = \frac{19+16}{51} = 0.6863$, $\hat{\pi}_{2\bullet} = \frac{1+15}{51} = 0.3137$, $\hat{\pi}_{\bullet 1} = \frac{19+1}{51} = 0.3922$ y

$\pi_{\bullet 2} = \frac{15+16}{51} = 0.6078$.

El coeficiente *kappa* resultante es

$$\hat{\kappa} = \frac{0.3725 + 0.2941 - 0.6863 \cdot 0.3922 - 0.3137 \cdot 0.6078}{1 - 0.6863 \cdot 0.3922 - 0.3137 \cdot 0.6078} = 0.3828$$

y su intervalo de confianza es [0.1292 ; 0.6464][8]. El valor del coeficiente es bastante bajo indicando una concordancia débil entre las dos pruebas.

Si se desea realizar un análisis desagregado, en primer lugar se calcula el coeficiente de correlación

$$\hat{\rho} = \frac{0.3725 \cdot 0.2941 - 0.3137 \cdot 0.0196}{\sqrt{0.6863 \cdot 0.3137 \cdot 0.3922 \cdot 0.6078}} = 0.4565$$

el coeficiente de correlación indica una asociación débil entre las dos pruebas. Si se comparan las proporciones marginales mediante un test de McNemar se rechaza la hipótesis de homogeneidad (P<0.001), la prueba A tiende a dar mayor resultados positivos que la prueba B. Por lo tanto, en este caso la discordancia se debe tanto a error sistemático como a error aleatorio.

Concordancia entre variables cuantitativas

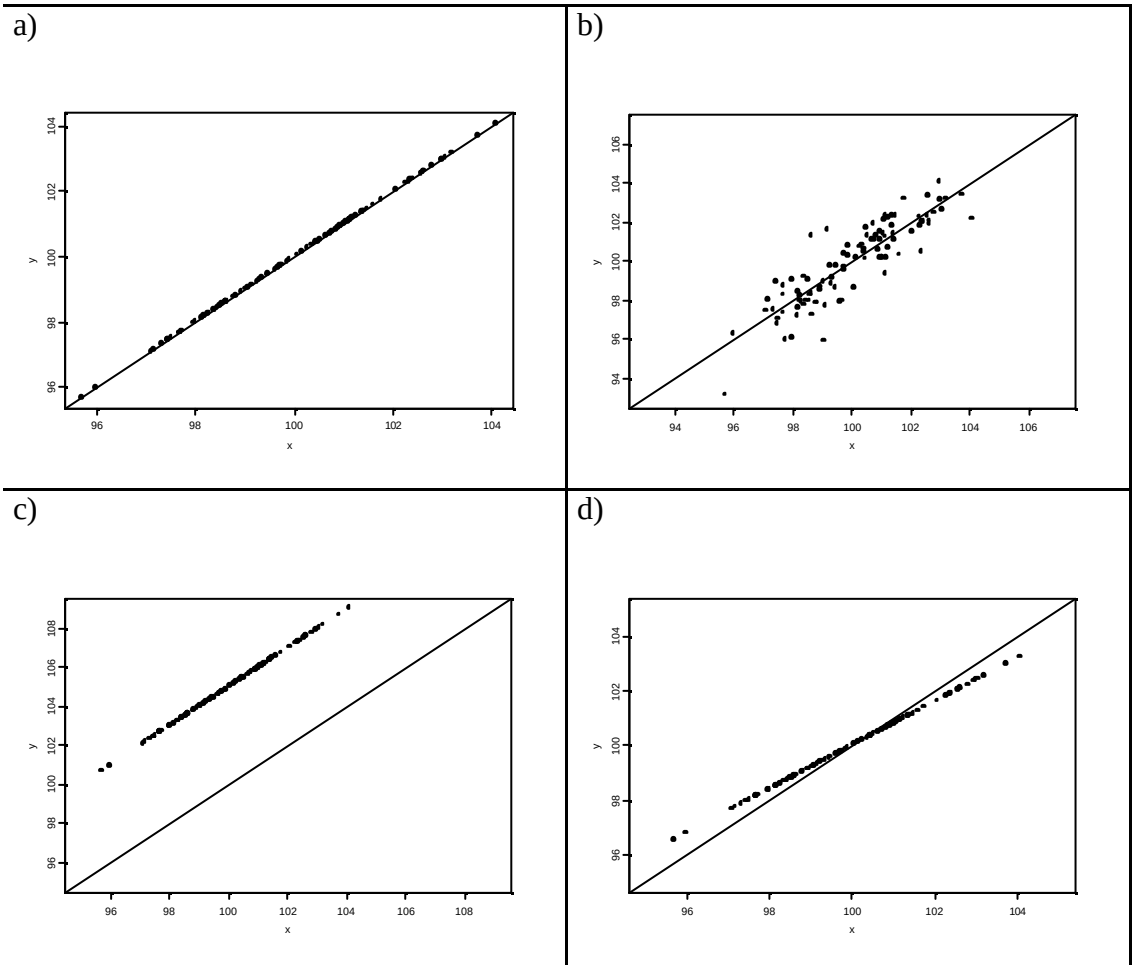
Supongamos que una característica cuantitativa se mide mediante dos métodos, X e Y, en una serie de N individuos. Una primera aproximación exploratoria seria representar gráficamente los dos métodos mediante un diagrama de dispersión, donde cada punto representa la pareja de medidas obtenida de cada individuo. Si la concordancia fuera perfecta, todos los puntos se situarían sobre la bisectriz (Y=X), tal como se muestra en la Figura 1. En esta situación es fácil ver que la asignación del procedimiento X al eje de abcisas y el de Y al eje de ordenadas es absolutamente arbitraria: se obtendría la misma imagen gráfica en caso de invertir la asignación de los ejes. Observando este gráfico (Figura 1a) es fácil intuir que una medida útil de discordancia podría basarse en la distancia de cada punto a la bisectriz. Se puede demostrar que la media de estas distancias es proporcional a la desviación cuadrática media $\mathrm{DCM} = \frac{1}{N}\sum_{i=1}^{n}(X_i - Y_i)^2$. Esta medida puede expresarse en función de las medias y las varianzas de los resultados obtenidos con cada método y la correlación entre ambos, del siguiente modo:

$$\mathrm{DCM} = (\mu_X - \mu_Y)^2 + (\sigma_X - \sigma_Y)^2 + 2(1 - \rho_{XY})\sigma_X\sigma_Y$$

donde μ_X y μ_Y representan las medias de cada método, σ_X y σ_Y las desviaciones típicas y ρ_{XY} el coeficiente de correlación de Pearson.

La concordancia será perfecta cuando DCM=0, situación que se dará si y sólo si los tres términos son iguales a cero. Ello implica que haya igualdad de medias (ausencia de error sistemático constante y proporcional), $\mu_X = \mu_Y$, igualdad de desviaciones típicas (ausencia de error sistemático proporcional), $\sigma_X = \sigma_Y$, y que la correlación sea perfecta (ausencia de error aleatorio), $\rho_{XY} = 1$. Llegados a este punto es fácil darse cuenta de que la comparación de medias o el cálculo del coeficiente de correlación de Pearson son insuficientes para el estudio de la concordancia. La igualdad de medias tan sólo garantiza que los dos métodos se encuentran centrados en el mismo valor, pero en ningún caso que todos sus valores sean iguales. Las figuras 1b y 1d representan situaciones en que hay igualdad de medias pero los valores no concuerdan. Del mismo modo un coeficiente de correlación de 1 indica una relación lineal perfecta, es decir, la relación entre los dos métodos es una recta carente de error aleatorio, pero esta recta no tiene por qué ser la bisectriz (Figuras 1c y 1d) y, por tanto, una correlación perfecta no es sinónimo de concordancia perfecta . Además la diferencia de varianzas ha resultado ser también un componente de la concordancia, y por tanto debe también ser evaluado.

Figura 1. Ejemplos de gráficos de dispersión de las mediciones realizadas por dos instrumentos de medida



Existen diferentes procedimientos para evaluar la concordancia entre medidas cuantitativas. Entre ellos hemos querido destacar en este artículo el Coeficiente de Concordancia[9] y el método Bland-Altman[10], pero existen otros procedimientos ampliamente utilizados como el coeficiente de correlación intraclase[1], estrechamente ligado al coeficiente de concordancia, y el modelo de ecuación estructural[11]. Este último merece una mención especial, ya que es habitual analizar la concordancia entre dos métodos mediante el ajuste de un modelo de regresión simple $Y = \alpha + \beta X$ por el método de mínimos cuadrados, basado en la suposición de que X está libre de error. En general, esta suposición no es razonable, y los modelos de ecuaciones estructurales permiten obtener un modelo de relación lineal entre los dos métodos sin necesidad de hacerla.

Coeficiente de concordancia de Lin

Este coeficiente se definió[9] reescalando la desviación cuadrática media entre los métodos de medida de forma que adoptase valores entre -1 y 1. La expresión del coeficiente de concordancia es

$$\rho_C = \frac{2 \cdot \sigma_{XY}}{\sigma_X^2 + \sigma_Y^2 + (\mu_X - \mu_Y)^2}$$

donde σ_{XY} representa la covarianza entre los dos métodos de medida. Este coeficiente toma el valor 1 en caso de concordancia perfecta, y el valor 0 en caso de independencia entre los dos métodos. En teoría, este estadístico puede tomar también valores negativos. Así, $\rho_C = -1$ indicaría una discordancia perfecta entre los dos métodos, aunque esta situación resulta inverosímil en un problema real, puesto que los dos procedimientos X e Y pretenden medir la misma característica.

El coeficiente de concordancia de Lin es una medida agregada ya que evalúa la concordancia globalmente, mediante un único valor. Un análisis desagregado consistiría en evaluar por separado la diferencia de medias, la diferencia de varianzas y el coeficiente de correlación.

Si se desea realizar algún tipo de inferencia sobre este coeficiente, como la construcción de intervalos de confianza o contrastar algún tipo de hipótesis, hay que tener en cuenta que los procedimientos derivados para este fin tienen como asunción que tanto Y como X se distribuyen según una ley Normal[9].

El coeficiente de concordancia es una medida dependiente de la covarianza entre los métodos y, al igual que en el caso del índice *kappa* y la prevalencia, no debería compararse coeficientes de concordancia con covarianzas muy diferentes.

Método Bland-Altman

Con este procedimiento desagregado[10, 12, 13], se pretende determinar si dos métodos de medida X e Y concuerdan lo suficiente para que puedan ser declarados como intercambiables. Para ello, se calcula, para cada individuo, la diferencia entre las medidas obtenidas con los dos métodos (D=X-Y). La media de estas diferencias $(\bar{x}_d)$ representa el error sistemático mientras que la varianza de estas diferencias (s_d^2) mide la dispersión del error aleatorio, es decir, la imprecisión. Se ha propuesto utilizar estas dos medidas para calcular los límites de concordancia del 95% como $\bar{x}_d \pm 2 \cdot s_d$. Estos límites nos informan entre que diferencias oscilan la mayor parte de las medidas tomadas con los dos métodos. Naturalmente, corresponde al investigador valorar si estas diferencias son suficientemente pequeñas como para considerar que los dos métodos sean intercambiables, o no.

Por otro lado, para que la media y la varianza de las diferencias sean estimaciones correctas debemos asumir que son constantes a lo largo del rango de medidas, es decir, que la magnitud de la medida no está asociada con un error mayor. Para comprobar esta suposición se puede construir un gráfico de dispersión, representando las diferencias (D) en el eje de ordenadas y la media de las dos medidas de cada individuo, $(X+Y)/2$ en el eje de abscisas. La media de las medidas de los dos métodos puede entenderse como una aproximación al valor real ya que se estaría atenuando el error de medida de los dos métodos, de este modo esta representación gráfica permite observar si existe algún tipo de relación entre la diferencia de los dos métodos respecto a la magnitud de la medida, es decir, si el error de medida es constante a lo largo del rango de valores de la característica que se está midiendo o, si por el contrario, el error se incrementa conforme aumenta el valor real que se quiere medir. Asimismo es posible representar los límites de concordancia del 95% pudiendo identificar los individuos más discordantes.

Ejemplo

En la tabla VII se muestran los valores obtenidos por dos métodos de medida utilizados en 16 sujetos. En la figura 2a se representa las dos variables en un gráfico de dispersión. En esta figura puede observarse que las medidas no concuerdan, tanto por error sistemático (alejamiento de la bisectriz) como por error aleatorio (dispersión de los puntos).

Tabla VII. Ejemplo de mediciones sobre una característica cuantitativa realizadas por dos métodos de medida.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
Método X	4200	3500	1900	4700	1600	3300	2400	2800	2100	2900	1800	1600	3700	2900	1200	1700
Método Y	5100	5600	3100	6700	2700	5600	5000	3100	2100	3400	1600	1800	4700	3700	3100	2800

El análisis para evaluar la concordancia se realizará combinando tanto el coeficiente de concordancia de Lin como el método de Bland y Altman, ya que los dos procedimientos pueden utilizarse paralelamente en el mismo análisis.

Para ello, en necesario obtener las medias y las varianzas de cada método, la covarianza de ambos, y la media y la desviación típica de las diferencias. En la tabla VIII se muestran estos valores.

Tabla VIII. Medias, varianzas y covarianza de las mediciones realizadas por los dos métodos de medida y su diferencia.

Método	Media	Varianza	Covarianza
X	2643,75	1057292	1308042
Y	3756,25	2291958	
D = Y-X	1112,5	733166,7	

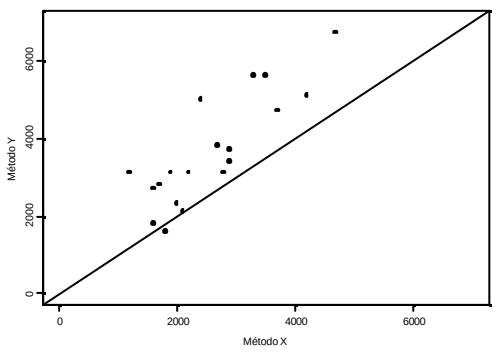
La estimación del coeficiente de concordancia es 0.5703 con un intervalo de confianza[9] de [0.2892 ; 0.7609], indicando un bajo grado de concordancia.

Los límites de concordancia de Bland-Altman son $1112{,}5 - 2 * \sqrt{733166{,}7} = -600$ y $1112{,}5 + 2 * \sqrt{733166{,}7} = 2825$. Éstos se representan el gráfico de Bland-Altman de la Figura 2b, donde puede observarse que la diferencia entre los dos métodos tiene una tendencia lineal positiva, esto es, la diferencia se incrementa con la magnitud de la medida. Este hecho es indicativo de un error sistemático proporcional que puede ser estimado mediante el cociente de desviaciones típicas $s_Y / s_X = \sqrt{2291958/1057292} = 1.47$.

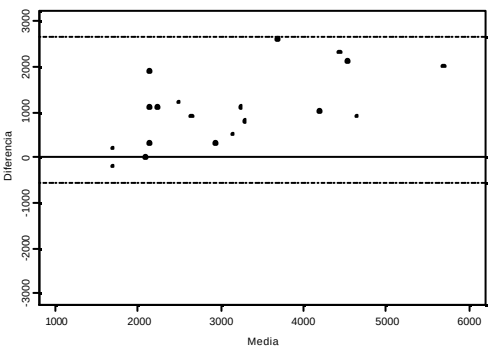
Este resultado se interpreta del siguiente modo: el método Y toma sistemáticamente valores superiores al método X en una proporción de 1,47. El coeficiente de correlación es de 0.8402, indicando un grado de correlación elevado. Por lo tanto la principal fuente de discordancia entre los dos métodos es el error sistemático.

Figura 2. Gráfico de dispersión y gráfico Diferencia versus Media relacionados con los instrumentos de medida del ejemplo

a)



b)



Discusión

La calidad de las medidas es fundamental en cualquier ámbito, pero adquiere un especial interés en el campo de las Ciencias de la Salud[14,15,16], donde continuamente se toman decisiones basadas en mediciones. Esto implica que el acierto en las decisiones depende de la calidad de dichas mediciones. Es tentador dar por supuesto que los métodos de medida que utilizamos son buenos y que los resultados que nos proporcionan son correctos y fiables. Si una glucemia en ayunas es de 129 mg/dl se diagnóstica al paciente como diabético, pero ¿quién nos asegura que realmente este paciente tiene tal concentración de glucosa en sangre? Es más, si se repite la determinación en otro laboratorio, ¿se obtendrá el mismo resultado? Estas preguntas sólo pueden responderse mediante ensayos de fiabilidad y concordancia de las medidas.

La falta de concordancia puede deberse a dos tipos de error: sistemático y/o aleatorio. Mientras que el error sistemático puede corregirse (por calibración), para disminuir el error aleatorio es necesario estudiar sus posibles causas e intentar controlar algunas de ellas en nuevas versiones más perfeccionadas del método o aparato de medida.

Referencias

1. Fleiss JL. The Design and Analysis of Clinical Experiments. New York: Wiley, 1986
2. Cohen, J. A coefficient of agreement for nominal scales. Educational and Psychological Measurements 1960; 20; 37-46
3. Shoukri MM. Measurement of agreement. En Armitage P, Colton T, editors. Encyclopedia of biostatistics. Chichester: Wiley & Sons , 1998; p.103-17
4. Agresti A. An Introduction to Categorical Data Analys. New York: Wiley & Sons, 1996
5. Shoukri MM, Martin SW, Mian IUH. Maximum likelihood estimation of the kappa coefficient from models of matched binary responses. Statistics in Medicine 1995; 14; 83-99
6. Cohen J. Weighted kappa: nominal scale agreement with provisions for scaled disagreement or partial credit. Psychological bulletin 1968; 70; 213-220
7. Thompson WD, Walter SD. A reappraisal of the kappa coefficient. Journal of Clinical Epidemiology, 1988; 41; 969-970.
8. Shoukri MM, Pause CA. Statistical Methods for Health Sciences 2nd edition. Boca Ratón: CRC Press, 1999
9. Lin L. A concordance correlation coefficient to evaluate reproducibility. Biometrics. 1989; 45; 255-268.
10. Bland JM, Altman DG. Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. The Lancet 1986;l 1:8476;307-10
11. Kelly GE. Use of the structural equations model in assessing the reliability of a new measurement technique. Applied Statistics 1985; **34**(3):258-263
12. Bland JM, Altman DG. Comparing methods of measurement: why plotting difference against standard methods is misleading. The Lancet 1995; 346; 1085-1087
13. Bland JM, Altman DG. Measuring agreement in method comparison studies. Statistical Methods in Medical Research 1999; 135-160.
14. Andersson SW, Niklasson A, Lapidus L, Hallberg L, Bengtsson C, Hulthén L. Poor agreement between self-reported birth weight and birth weight from original records in adult women. American Journal of Epidemiology 2000; 152:7; 609-616.
15. Schisterman EF, Faraggi D, Reiser B, Trevisan M. Statistical inference for the are under the receiver operating characteristic curve in the presence of random measurement error. American Journal of Epidemiology 2001; 154:2; 174-179
16. White E. Design and interpretation of studies of differential exposure measurement error. American Journal of Epidemiology 2003; 157:5; 380-387.

CAPÍTOL 2

EL COEFICIENT DE CONCORDANÇA

Introducció

En aquest capítol s'analitzen dos procediments agregats per avaluar la concordança com són el coeficient de concordança (Lin, 1989) i el coeficient de correlació intraclasse (Fleiss, 1986). En el primer article que composa aquest capítol els dos coeficients són comparats, arribant-se a la conclusió de que són dues expressions d'un mateix índex, les quals es diferencien en el mètode d'estimació. Donat que el coeficient de correlació intraclasse té diferents expressions variant segons el model de mesura subjacent, aquest fet porta a la conclusió de que el coeficient de concordança és un coeficient de correlació intraclasse en particular, concretament aquell basat en un model lineal mixt on els individus o *clusters* són considerats un efecte aleatori mentre que els mètodes de mesura són un efecte fix, però que intervenen en el coeficient de correlació intraclasse mitjançant una suma de quadrats. Aquest resultat és el que ha fet que el capítol es tituli "el Coeficient de Concordança" i no es mencioni el coeficient de correlació intraclasse perquè el mateix coeficient de concordança ha de ser interpretat com un coeficient de correlació intraclasse.

En el segon article s'analitza el comportament del coeficient de concordança quan les dades són recomptes. En aquest sentit s'ha comparat el coeficient de concordança estimat mitjançant un model lineal generalitzat mixt enfront de l'obtingut amb un model lineal mixt clàssic tant amb les dades originals com transformades per normalitzar-les.

Estimating The Generalized Concordance Correlation Coefficient Through Variance Components

Josep L. Carrasco and Lluís Jover

Bioestadística, Departament de Salut Pública, Universitat de Barcelona.

Facultat de Medicina. Casanova, 143 08036 Barcelona, Spain

e-mail. carrasco@medicina.ub.es

SUMMARY

The intraclass correlation coefficient (ICC) and the concordance correlation coefficient (CCC) are two of the most popular measures of agreement for variables measured on a continuous scale. Here we demonstrate that ICC and CCC are the same measure of agreement estimated in two ways: variance components and moment method procedures. We propose to estimate the CCC using variance components of a mixed effects model instead of the common method of moments. With the variance components approach the CCC can easily be extended to more than two observers and adjusted using confounding covariates by incorporating them in the mixed model. A simulation study is carried out to compare the variance components approach with the moment method. The importance of adjusting by confounding covariates is illustrated through a case example.

KEYWORDS: Agreement; Concordance correlation coefficient; Variance components; Intraclass correlation coefficient; Mixed effects model.

1. Introduction

Agreement between continuous data measured from different measurement methods has received a great deal of attention from the scientific community. The measurement methods can be multiple systems, processes, machines or raters, but for the sake of simplicity we refer to them as observers throughout the paper. A simple way to classify the procedures which measure agreement is to differentiate between aggregate and disaggregate approaches, where a disaggregate approach evaluates agreement for each component of the measurement model separately, for example, difference of means or error variances. An example of a disaggregate procedure is the structural equation model (Cheng and Van Ness, 1999; Kelly, 1985).

On the other hand, an aggregate approach assesses agreement using a single measure as a concordance magnitude. The intraclass correlation coefficient (Pearson, 1901) and the concordance correlation coefficient (Lin, 1989) are two of the most popular aggregate procedures used to measure agreement when data are on a continuous scale.

The intraclass correlation coefficient (ICC) measures the amount of overall data variance due to between-subjects variability, while the concordance correlation coefficient (CCC) was defined by Lin (1989) based on the distance on the plane of each pair of data to the 45º line through the origin. The CCC has components of precision and accuracy. The disaggregate approach can also be evaluated by assessing the precision and accuracy components separately (Lin et al, 2002).

Since the ICC is defined using variance components, several expressions of ICC can be found (Bartko, 1966; Shrout and Fleiss, 1979) depending on the measurement model chosen. The ICC usually comes from a 2-way analysis of variance where observers and subjects are considered as effects. But at the same time, this dependence of the ICC expression on the measurement model causes some confusion. Thus, the ICC was criticized as a measure of agreement among observers for two reasons: first, it allows duplicate readings to be interchangeable (Lin, 1989; Barnhart and Williamson, 2001), that is, it cannot measure lack of accuracy (difference of means) between observers measures; and second, it gives a negative value when the paired readings are uncorrelated (Lin, 1989). We will argue that the ICC is a valid measure of agreement among observers and it can indeed take into account the difference of observer means if it is suitably expressed.

The CCC is another, widely used agreement measure (Lin, 1992; Calderone and Turcotte, 1998; Ruel et al., 1997; Singh and Jones, 2002) and it is interesting to note the differences and similarities between the coefficients. For the case of two observers, Nickerson (1997) found

them practically identical, and Robieson (1999) found them to be asymptotically equivalent. Furthermore, a CCC for more than two observers is required (Lin, 1989; King and Chinchilli, 2001; Barnhart, Haber and Song, 2002) and, moreover, the CCC needs to be adjusted by confounding covariates (Barnhart and Williamson, 2001; King and Chinchilli, 2001). As a result of the comparison between the CCC and ICC we will show that it is simple to adjust the CCC by covariates and obtain a CCC for more than two observers.

The paper is structured as follows: in section 2, the ICC and CCC are defined and compared. Section 3 contains the extension of CCC to more than two observers, the covariate-adjusted CCC, and some inference questions. In section 4, moment-method and variance components procedures of CCC estimation are compared through a simulation study. Section 5 shows a case-example involving the agreement between a manual and an automatic blood pressure device. In this example, the need for confounding covariate adjustment is illustrated through the inclusion of sex, age and heart rate in the CCC estimation. Finally, the discussion and conclusions are included in section 6.

2. Comparison of CCC and ICC

2.1 Concordance Correlation Coefficient

Lin (1989) defined the CCC for two observers assuming data was distributed under a bivariate normal distribution, therefore $(Y_1, Y_2) \sim MVN(\boldsymbol{\mu}, \Sigma)$ where Y_1 and Y_2 are the array of measurements of each observer, $\boldsymbol{\mu} = (\mu_1, \mu_2)$ is the vector of the observer means and

$$\mathbf{S} = \begin{pmatrix} \sigma_1^2 & \sigma_{12} \\ \sigma_{12} & \sigma_2^2 \end{pmatrix}$$

is the covariance matrix.

Lin based the CCC on the distance between Y_1 and Y_2 in relation to the concordance point. He used the expectation of the square difference, defining the CCC as

$$\rho_C = 1 - \frac{E\{(Y_1 - Y_2)^2\}}{E\{(Y_1 - Y_2)^2\} \text{ when } Y_1 \text{ and } Y_2 \text{ are uncorrelated}} = \frac{2 \cdot \sigma_{12}}{\sigma_1^2 + \sigma_2^2 + (\mu_1 - \mu_2)^2}.$$

To build confidence intervals Lin (1989) suggests using the inverse hyperbolic tangent transformation or Z-transformation, $Z_C = \tanh^{-1}(\rho_C) = 0.5 \cdot \ln\{(1+\rho_C)/(1-\rho_C)\}$, which improves the approximation to a Gaussian distribution. The standard error expression of $\hat{Z}_C$ was provided by Lin (1989, 2000), so the confidence interval estimation is made through the confidence interval of $\hat{Z}_C$, which is built using a standard normal distribution.

2.2 Intraclass correlation coefficient

Suppose a continuous variable is measured *m* times from *n* subjects by *k* observers or judges. The measurement model assumed is $Y_{ijl} = \mu + \alpha_i + \beta_j + e_{ijl}$ (Fleiss, 1986), where Y_{ijl} is the *l*th measurement made on individual *i* by observer *j* with *i*=1,...,n, *j*=1,...,k and *l*=1,...,m, μ is the overall mean, α_i is the individual effect, β_j is the observer effect and e_{ijl} is the random error. It is assumed that $\alpha_i \sim N(0, \sigma_\alpha^2)$ and $e_{ijl} \sim N(0, \sigma_e^2)$ and the error term does not covary with any other component of the measurement model.

The general expression of ICC is $\rho_{ICC} = \sigma_\alpha^2 / \sigma_Y^2$ (Fleiss, 1986), where σ_Y^2 is the variance of Y_{ijl}. Depending on the nature of the observer effect we will choose between two expressions of ICC: $\rho_{ICC} = \sigma_\alpha^2 / (\sigma_\alpha^2 + \sigma_\beta^2 + \sigma_e^2)$ if the observers are considered random and their effects distributed under a normal distribution $\beta_j \sim N(0, \sigma_\beta^2)$, or $\rho_{ICC,2} = \sigma_\alpha^2 / (\sigma_\alpha^2 + \sigma_e^2)$ if the observers are considered as fixed effect. It is obvious that ρ_{ICC} takes into account the differences in average among observers whereas $\rho_{ICC,2}$ fails to do so.

The observer effect is considered as a random effect if agreement among a population of observers is desired. In that case a random sample of observers is collected and ρ_{ICC} is used instead of $\rho_{ICC,2}$, but following Shrout and Fleiss (1979): "When the judge variance is ignored, the correlation index can be interpreted in terms of rater consistency rather than rater agreement. Researchers of the rating process may choose between ρ_{ICC} and $\rho_{ICC,2}$ on the basis of which of these concepts they wish to measure." Therefore, to measure agreement among observers ρ_{ICC} has to be used even if the observer effect is fixed. In this case the term σ_β^2 will be a sum of squares, $\sigma_\beta^2 = (k-1)^{-1} \sum_{j=1}^{k} \beta_j^2$, rather than a variance (Fleiss, 1986), where $\beta_j = \mu_j - \mu$ is the difference between the mean of observer *j* with respect to the overall mean and k is the number of observers. The Z-transformation can be used to build a confidence interval for ICC, although Fleiss and Shrout (1978) suggested an approach based on F-distribution when the observers are assumed to be normally distributed.

2.3 How different are ICC and CCC ?

To compare the coefficients we will assume that a continuous characteristic has been measured by *k* observers on *n* subjects, and one measurement by observer and subject is taken (*m*=1). Assuming that observers are a fixed effect, the following equalities are fulfilled

$$\sigma_{\alpha}^{2} = \frac{2}{k \cdot (k-1)} \sum_{i=1}^{k-1} \sum_{j=i+1}^{k} \sigma_{ij} ;$$

$$\sigma_{\beta}^{2} = \frac{1}{k \cdot (k-1)} \sum_{i=1}^{k-1} \sum_{j=i+1}^{k} (\mu_i - \mu_j)^2$$

and

$$\sigma_{e}^{2} = \frac{2}{k \cdot (k-1)} \sum_{i=1}^{k-1} \sum_{j=i+1}^{k} \frac{1}{2} (\sigma_i^2 + \sigma_j^2 - 2\sigma_{ij}) = \frac{1}{k} \sum_{i=1}^{k} \sigma_i^2 - \frac{2}{k \cdot (k-1)} \sum_{i=1}^{k-1} \sum_{j=i+1}^{k} \sigma_{ij}$$

where σ_i^2 and μ_i are the variance and mean of the measurements made by observer *i*, and σ_{ij} is the covariance between the measurements from observers *i* and *j*. Thus, the ICC can be expressed in terms of the variances, covariances and means of the observers measurements

$$\rho_{ICC} = \frac{\sigma_{\alpha}^2}{\sigma_{\alpha}^2 + \sigma_{\beta}^2 + \sigma_{e}^2} = \frac{2 \sum_{i=1}^{k-1} \sum_{j=i+1}^{k} \sigma_{ij}}{(k-1) \sum_{i=1}^{k} \sigma_i^2 + \sum_{i=1}^{k-1} \sum_{j=i+1}^{k} (\mu_i - \mu_j)^2}$$

which is exactly the same expression as the overall concordance correlation coefficient for k observers suggested in the works of Lin (1989), King and Chinchilli (2001) and Barnhart et al. (2002). Hence, the concordance correlation coefficient is the intraclass correlation coefficient when the observers are considered as a fixed effect.

This result implies that CCC can be estimated by variance components through a mixed effects model easily generalizable to more than two observers.

Although the concordance correlation coefficient is no more than a particular intraclass correlation coefficient, throughout the paper we will refer to it as concordance correlation coefficient.

3. Concordance correlation coefficient estimated by variance components

3.1 Estimation of the CCC for k observers

CCC could be estimated either using variance components estimation methods (Searle, Casella and McCulloch, 1992) or by estimating the variances, covariances and means of the observer measurements following Lin (1989).

Suppose S_i^2, $\overline{Y}_i$ and S_{ij} are the unbiased estimators of σ_i^2, μ_i and σ_{ij} respectively. If these estimates are used to estimate the components of CCC and their expectations are taken, we reach

$$E\left(\frac{2}{k \cdot (k-1)} \sum_{i=1}^{k-1} \sum_{j=i+1}^{k} S_{ij} \right) = \frac{2}{k \cdot (k-1)} \sum_{i=1}^{k-1} \sum_{j=i+1}^{k} \sigma_{ij}$$

$$E\left(\frac{1}{k}\sum_{i=1}^{k}S_j^2\right)=\frac{1}{k}\sum_{i=1}^{k}\sigma_i^2$$

but following Fleiss (1986)

$$E\left(\frac{1}{k\cdot(k-1)}\sum_{i=1}^{k-1}\sum_{j=i+1}^{k}\left(\overline{Y}_i-\overline{Y}_j\right)^2\right)=\frac{1}{k\cdot(k-1)}\sum_{i=1}^{k-1}\sum_{j=i+1}^{k}\left(\mu_i-\mu_j\right)^2+\frac{\sigma_e^2}{n},$$

where *n* is the number of subjects. Consequently, $\sum_{i=1}^{k-1}\sum_{j=i+1}^{k}\left(\overline{Y}_i-\overline{Y}_j\right)^2$ is a biased estimator of $\sum_{i=1}^{k-1}\sum_{j=i+1}^{k}\left(\mu_i-\mu_j\right)^2$, and the unbiased estimator is

$$\sum_{i=1}^{k-1}\sum_{j=i+1}^{k}\left(\overline{Y}_i-\overline{Y}_j\right)^2-\frac{k\cdot(k-1)}{n}\hat{\sigma}_e^2=\sum_{i=1}^{k-1}\sum_{j=i+1}^{k}\left(\overline{Y}_i-\overline{Y}_j\right)^2-\frac{k\cdot(k-1)}{n}\sum_{i=1}^{k-1}\sum_{j=i+1}^{k}\left(S_i^2+S_j^2-2S_{ij}\right).$$

Obviously, this bias will be more or less important depending on the sample size and on the magnitude of the error variance and will usually be quite negligible, but the unbiased estimator should be used:

$$\hat{\rho}_C=\frac{2\sum_{i=1}^{k-1}\sum_{j=i+1}^{k}S_{ij}}{(k-1)\sum_{i=1}^{k}S_i^2+\sum_{i=1}^{k-1}\sum_{j=i+1}^{k}\left(\overline{Y}_i-\overline{Y}_j\right)^2-\frac{k\cdot(k-1)}{n}\sum_{i=1}^{k-1}\sum_{j=i+1}^{k}\left(S_i^2+S_j^2-2S_{ij}\right)}$$

3.2 CCC adjusted by covariates

A focal point to estimate any covariance-based index is covariate adjustment, particularly the covariates concerning subject effect. When an index based on variance components is estimated, we consider that variance of subject effect should only take into account the variability of the analysed measure by removing other inter-subject sources of variability (i.e., sex or age) which increase the estimated between-subjects variance. In order to achieve this objective a method allowing subject-covariance adjustment is required.

Some procedures have been suggested to make this adjustment. Barnhart and Williamson (2001) proposed a covariate adjustment in CCC through generalized estimating equations, and King and Chinchilli (2001) give the expression of a stratified CCC.

Because the estimation of CCC through variance components of a mixed model has been demonstrated by means of the ICC, the adjustment by subject-covariates can be easily made by including these covariates in the model.

3.3 Inference about CCC

The CCC will be estimated using variance components of a mixed model with subjects as random effect and observers as fixed effect. Although $\hat{\rho}_C$ follows an asymptotic normal distribution (Lin, 1989), in order to build a (1-α)% confidence interval the inverse hyperbolic tangent transformation $\hat{Z}_C = \tanh^{-1}(\hat{\rho}_C) = 0.5\ln\{(1+\hat{\rho}_C)/(1-\hat{\rho}_C)\}$ can be used to accelerate the convergence to a normal distribution. In this case, first the confidence interval of Z_C will be estimated and then the hyperbolic tangent transformation will be applied to obtain a confidence interval for ρ_C.

The standard error of $\hat{Z}_C$ and $\hat{\rho}_C$ are approximated using the Delta method (see Appendix), then $\mathrm{Var}(\hat{\rho}_C)$ expression is

$$\frac{(1-\rho_C)^2\cdot \mathrm{Var}(\sigma_\alpha^2)+\left[\rho_C^2\cdot\left\{\mathrm{Var}(\sigma_\beta^2)+\mathrm{Var}(\sigma_e^2)+2\,\mathrm{cov}(\sigma_e^2,\sigma_\beta^2)\right\}\right]-\left[2\cdot(1-\rho_C)\cdot\rho_C\cdot\left\{\mathrm{cov}(\sigma_\alpha^2,\sigma_\beta^2)+\mathrm{cov}(\sigma_\alpha^2,\sigma_e^2)\right\}\right]}{\left(\sigma_\alpha^2+\sigma_\beta^2+\sigma_e^2\right)^2}$$

and

$$\mathrm{Var}(\hat{Z}_C)\approx\frac{\mathrm{Var}(\hat{\rho}_C)}{(1+\rho_C)^2\cdot(1-\rho_C)^2}.$$

The expressions of the standard errors of variance components depend on the estimation method. Usually this method will be a likelihood-based method such as maximum likelihood or restricted maximum likelihood. Then the variances and covariances of parameters will be approximated by the inverse of Fisher's information matrix except for the case of σ_β^2 when the observers are considered as a fixed effect. Here, the standard error can be approximated by (see Appendix)

$$\mathrm{Var}(\hat{\sigma}_\beta^2)\approx\frac{4}{k^2\cdot(k-1)^2}\sum_{i=1}^{k-1}\sum_{j=i+1}^{k}\left\{(\overline{Y}_i-\overline{Y}_j)^2\cdot\mathrm{Var}(\overline{Y}_i-\overline{Y}_j)\right\}+\frac{\mathrm{Var}(\hat{\sigma}_e^2)}{(n\cdot m)^2}.$$

For more details relating to methods of estimation for mixed effects models we address the reader to Searle et al. (1992).

Fleiss and Shrout (1978) give the expression of a confidence interval for ICC based on the F-distribution when the observers are considered as a random effect. This approach can also be used to make inferences about CCC. The $(1-\alpha)\%$ confidence interval will be provided by

$$\frac{k\cdot\sigma_\alpha^2+(1-F^*)\cdot\sigma_e^2}{F^*\left\{k\cdot\sigma_\beta^2+(k-1)\cdot\sigma_e^2\right\}+k\cdot\sigma_\alpha^2+\sigma_e^2}<\rho_C<\frac{k\cdot F_*\sigma_\alpha^2+(F_*-1)\cdot\sigma_e^2}{k\cdot\sigma_\beta^2+(k-1)\cdot\sigma_e^2+F_*\left(k\cdot\sigma_\alpha^2+\sigma_e^2\right)}$$

where F^* and F_* are the $(1-\alpha/2)\%$ percentiles of an F distribution with $(n-1,\nu)$ and $(\nu,n-1)$ degrees of freedom, respectively**.** Where

$$\nu = \frac{(k-1)\cdot(n-1)\cdot\left[k\cdot\hat{\rho}_{ICC}\cdot F_r + n\cdot\{1+(k-1)\cdot\hat{\rho}_{ICC}\}-k\cdot\hat{\rho}_{ICC}\right]^2}{(n-1)\cdot k^2\cdot\hat{\rho}_{ICC}^2\cdot F_r^2 + \left[n\cdot\{1+(k-1)\cdot\hat{\rho}_{ICC}\}-k\cdot\hat{\rho}_{ICC}\right]^2}$$

and $F_r = 1+\left(n\cdot\hat{\sigma}_\beta^2/\hat{\sigma}_e^2\right)$

4. Simulation study

In order to compare the CCC estimated by the usual moment method against the variance component method we carried out a simulation study. Firstly, we compared the two estimation methods in the most common situation with two observers or measurement methods simulating sixteen combinations of a bivariate normal distribution. We combined several values of differences of means, variances and correlation generating various values of CCC. From each situation we collected 1000 random samples and estimated the CCC and its standard error using both moment-method and variance components procedures. Sample sizes of 20 and 60 subjects were considered. Table 1 shows the values used to generate each population as well as the actual values of the CCC.

We compared the procedures in terms of accuracy and efficiency. The results are shown in Table 2. In this order, it was calculated the mean of the estimates (column Mean of CCC estimates), the mean square error, $MSE = E\left\{\left(\hat{\rho}_C - \text{Actual } \rho_C\right)^2\right\}$, the standard deviation of the estimates (column SE of CCC) and the mean of the estimated standard errors (column Mean of SE). We also analysed the empiric coverage of the confidence intervals. To build such intervals we considered the asymptotic normal distribution of the CCC, the Z-transformation as well as the procedure based on F-distribution (Table 3).

In order to study the behaviour of the CCC estimation using variance components in the case of more than two observers we used some results from Barnhart et al. (2002). In a simulation considering four observers they estimated the CCC by Generalized Estimating Equations and through the U-statistics approach proposed by King and Chinchilli (2001). The situations considered were a multivariate normal distribution with vector mean $\mu = (0.0 \quad 0.2 \quad 0.4 \quad 0.6)$ and a symmetric covariance matrix with the elements of the diagonal equal to 1 and ρ in the off-diagonal, where ρ indicates Pearson's correlation coefficient taking values of 0.9, 0.7 and 0.5**.** A thousand random samples were selected and sample sizes of 25, 50 and 100 subjects were considered. The results obtained by Barnhart et al. (2002) are attached to the results using the variance components (Table 4).

In the simulation with two observers, we found a minimal bias in point estimation as well as in standard error estimation. For point estimation, the bias grows when the value of the CCC

decreases and the bias is systematically greater in moment-method (MM) than in variance components (VC) confirming the bias of the MM estimator proposed by Lin (1989).

Both procedures give accurate estimates of the standard error with the exception of the MM method when there is a difference of means and the correlation is 0.99. In this case the MM method fails and gives a standard error mean between 54.9% and 70.4% of the actual standard error. Regarding the variability of the estimates (SE of CCC in table 2), the standard error of the estimates is systematically greater in the MM than the VC approach.

The coverage of the confidence intervals is correct compared to nominal coverage but we must highlight combinations 9 and 13, where the MM approach fails to achieve the desirable coverage. This is linked to the fact that in these combinations the moment method underestimates the standard error.

Despite the fact that the coverage is correct with the asymptotic approach, the Z-transformation gives more accurate and steady coverage. The confidence intervals based on F approximations work quite well when there is no difference of means but when this component of variance appears, the F-approximation overestimates the nominal coverage.

In the simulation with more than two observers, there is a bias in GEE and U-statistics. This may be attributable to the use of the CCC biased estimator (section 2). Standard errors are estimated with more precision in the variance components method, which improves coverage of confidence intervals in most combinations simulated.

Table 1. Combinations of parameters simulated. μ_1 and μ_2 are the means and σ_1^2 and σ_2^2 are the variances of observers 1 and 2 respectively. ρ_{12} is Pearson's correlation coefficient, ρ_C is the concordance correlation coefficient.

Comb.	μ_1	μ_2	σ_1^2	σ_2^2	ρ_{12}	ρ_C
1	100	100	100	100	0.99	0.99
2					0.9	0.9
3					0.7	0.7
4					0.5	0.5
5	100	100	100	125	0.99	0.9839
6					0.9	0.8944
7					0.7	0.6957
8					0.5	0.4969
9	100	105	100	100	0.99	0.8800
10					0.9	0.8000
11					0.7	0.6222
12					0.5	0.4444
13	100	105	100	125	0.99	0.8855
14					0.9	0.8050
15					0.7	0.6261
16					0.5	0.4472

Table 2. Simulation results. The terms MM and VC refer to moment-method and variance components method respectively

Comb.	Sample size	Actual CCC	Mean of CCC estimates		MSE×10^5		SE of CCC (1)		Mean of SE (2)		(2) / (1)	
			MM	VC	MM	VC	MM	VC	MM	VC	MM	VC
1	20	0.99	0.9888	0.9891	0.25	0.24	0.0049	0.0048	0.0056	0.0054	1.143	1.125
	60	0.99	0.9896	0.9897	0.07	0.07	0.0026	0.0026	0.0028	0.0028	1.077	1.077
2	20	0.9025	0.8902	0.8923	25.85	24.82	0.0499	0.0493	0.0514	0.0499	1.030	1.012
	60	0.9025	0.8987	0.8994	6.19	6.1	0.0249	0.0247	0.0257	0.0254	1.032	1.028
3	20	0.7103	0.6884	0.6933	145.82	143.13	0.1203	0.1195	0.1219	0.1198	1.013	1.003
	60	0.7103	0.7004	0.7022	43.1	42.92	0.0657	0.0655	0.0668	0.0663	1.017	1.012
4	20	0.4947	0.4619	0.4682	327.9	314.04	0.1771	0.1744	0.1736	0.1711	0.980	0.981
	60	0.4947	0.4796	0.4816	104.5	103.92	0.1002	0.1003	0.0991	0.099	0.989	0.987
5	20	0.9833	0.981	0.9814	0.62	0.58	0.0073	0.0072	0.0078	0.009	1.068	1.250
	60	0.9833	0.9826	0.9827	0.15	0.15	0.0037	0.0037	0.0037	0.0046	1.000	1.243
6	20	0.89	0.8747	0.8773	35.3	33.3	0.0561	0.0551	0.0568	0.056	1.012	1.016
	60	0.89	0.8878	0.8886	7.54	7.34	0.0267	0.0265	0.0275	0.0279	1.030	1.053
7	20	0.6946	0.6764	0.6813	151.08	148.13	0.1215	0.1209	0.1245	0.1237	1.025	1.023
	60	0.6946	0.6887	0.6903	47.23	46.71	0.0684	0.0682	0.0681	0.0684	0.996	1.003
8	20	0.4985	0.4527	0.4591	318.53	308.23	0.173	0.1715	0.1742	0.1723	1.007	1.005
	60	0.4985	0.4797	0.4817	92.39	92.23	0.0946	0.0949	0.0985	0.0991	1.041	1.044
9	20	0.8801	0.8706	0.871	20.77	20.62	0.0446	0.0445	0.0245	0.0397	0.549	0.892
	60	0.8801	0.8771	0.8772	4.42	4.41	0.0208	0.0208	0.0132	0.0214	0.635	1.029
10	20	0.8013	0.7792	0.7828	62.03	59.62	0.076	0.0753	0.0796	0.0752	1.047	0.999
	60	0.8013	0.7941	0.7953	16.36	16.14	0.04	0.0399	0.0429	0.0408	1.073	1.023
11	20	0.6177	0.5972	0.6047	178.63	174.17	0.1314	0.1309	0.1336	0.1268	1.017	0.969
	60	0.6177	0.6149	0.6176	52.74	52.23	0.0723	0.0722	0.0754	0.0712	1.043	0.986
12	20	0.4344	0.4218	0.4306	250.78	242.04	0.1568	0.155	0.1663	0.1616	1.061	1.043
	60	0.4344	0.4278	0.4309	85.43	84.88	0.091	0.0912	0.0963	0.0937	1.058	1.027
13	20	0.8867	0.8776	0.8783	17.31	17.13	0.0409	0.0408	0.028	0.0394	0.685	0.966
	60	0.8867	0.883	0.8832	4.6	4.58	0.0213	0.0213	0.015	0.0214	0.704	1.005
14	20	0.8036	0.7883	0.7921	62.64	60.33	0.0774	0.0766	0.0783	0.0742	1.012	0.969
	60	0.8036	0.798	0.7993	15.79	15.52	0.0391	0.039	0.0429	0.041	1.097	1.051
15	20	0.6343	0.6113	0.6191	165.47	162.39	0.1279	0.1273	0.1312	0.1256	1.026	0.987
	60	0.6343	0.6264	0.6292	47.35	47.25	0.0688	0.0687	0.0743	0.0712	1.080	1.036
16	20	0.4487	0.4259	0.4349	235.08	227.65	0.1519	0.1505	0.1666	0.1631	1.097	1.084
	60	0.4487	0.4405	0.4436	84.59	84.56	0.0918	0.0919	0.0959	0.0941	1.045	1.024

Table 3. Percentage of cover of the confidence intervals. Column *n* shows the sample size. The nominal coverage is 95%. The combinations simulated are shown in Table 1.

		Moment Method		Variance Components		
Comb	n	Asymptotic	Z-trans.	Asymptotic	Z-trans.	F
1	20	94.8	96.2	94.5	96.2	97.1
	60	96.1	96.1	96.1	95.9	96.5
2	20	91.5	93.7	90.7	93.8	94.1
	60	96.1	94.9	94.1	95.0	95.5
3	20	91.3	94.9	89.9	94.8	95.2
	60	94.1	95.9	92.9	95.6	95.8
4	20	91.8	94.4	91.9	94.7	95.2
	60	93.2	93.9	93.1	93.8	94.0
5	20	96.1	95.5	98.3	98.3	98.8
	60	96.8	94.2	98.8	97.5	97.6
6	20	95.6	94.7	94.9	94.1	94.6
	60	94.7	94.6	94.7	94.8	94.8
7	20	93.8	95.5	92.9	95.4	96.4
	60	94.4	94.9	94.4	95.1	95.4
8	20	93.2	94.0	93.4	94.2	95.5
	60	95.6	95.7	95.8	95.8	96.1
9	20	74.6	76.1	94.8	94.5	99.8
	60	78.8	78.0	96.2	94.7	100.0
10	20	95.1	94.6	93.7	94.2	99.8
	60	95.2	96.1	94.6	95.4	100.0
11	20	93.9	94.0	92.6	93.8	98.6
	60	94.7	95.6	92.1	94.5	99.9
12	20	92.8	95.8	92.4	95.2	97.8
	60	95.4	95.2	94.7	95.3	97.8
13	20	82.7	82.5	94.4	94.0	100.0
	60	84.6	84.0	94.1	95.1	100.0
14	20	93.5	94.4	92.9	93.6	99.3
	60	96.1	96.1	96.1	95.7	100.0
15	20	92.5	94.3	91.5	93.8	97.7
	60	94.5	95.7	93.1	95.0	99.3
16	20	94.4	96.1	94.7	95.6	97.3
	60	94.1	96.4	93.7	95.8	98.1

Table 4. Results of the simulations for more than two observers.

True ρ	True ρ_C	Sample size	Method	Mean	S.D.	Mean S.E.	95% coverage (%)*	95% coverage (%)**
0.5	0.469	100	GEE	0.464	0.0517	0.0492	93.8	
			U-Stat	0.464	0.0517	0.0491	93.8	
			VC	0.473	0.0477	0.0502	95.9	96.1
		50	GEE	0.459	0.0702	0.0679	93.1	
			U-Stat	0.459	0.0702	0.0679	93.1	
			VC	0.465	0.0746	0.0709	92.6	93.7
		25	GEE	0.449	0.1001	0.0906	89.5	
			U-Stat	0.449	0.1001	0.0904	89.4	
			VC	0.462	0.1003	0.1001	92.9	94.1
0.7	0.656	100	GEE	0.651	0.0410	0.0398	93.1	
			U-Stat	0.651	0.0410	0.0398	93.2	
			VC	0.659	0.0380	0.0398	94.8	95.3
		50	GEE	0.646	0.0580	0.0549	92.3	
			U-Stat	0.646	0.0580	0.0550	92.4	
			VC	0.652	0.0605	0.057	92.6	92.2
		25	GEE	0.635	0.0841	0.0753	90.4	
			U-Stat	0.635	0.0841	0.0756	90.5	
			VC	0.646	0.0844	0.0815	93.6	93.8
0.9	0.844	100	GEE	0.840	0.0226	0.0211	92.4	
			U-Stat	0.840	0.0226	0.0216	92.7	
			VC	0.844	0.0210	0.0211	95.0	95.5
		50	GEE	0.836	0.0315	0.0300	93.9	
			U-Stat	0.836	0.0315	0.0307	94.2	
			VC	0.840	0.0339	0.0308	92.7	92.5
		25	GEE	0.828	0.0498	0.0419	91.2	
			U-Stat	0.828	0.0498	0.0428	91.6	
			VC	0.837	0.0466	0.0449	94.0	94.0

* Using $\hat{\rho}_C \pm 1.96 \cdot \text{S.E.}(\hat{\rho}_C)$

** Using the Z-transformation

5. Blood pressure devices data

The importance of adjusting the concordance correlation coefficient (CCC) by subject-covariates is shown by way of an example. In order to compare a handle mercury sphygmomanometer device against an OMRON© 711 automatic device a sample of 384 subjects was collected in the area of Girona (Catalonia, Spain). Systolic and diastolic blood pressure was simultaneously measured twice by each instrument although we will only use the systolic blood pressure in the example. Sex, age and heart rate of each subject were measured as covariates. Sex was coded as 0 for males and 1 for females, whereas age and heart rate were taken as continuous variables.

First, we fit a mixed effects model via REML with subjects as random effect and measurement instruments as fixed effect. The resulting variance components are (Table 5) $\hat{\sigma}^2_{\alpha} = 380.187$, $\hat{\sigma}^2_{e} = 52.867$ and $\hat{\sigma}^2_{\beta} = \{(-2.174)^2/2\} - \{52.867/(384 \cdot 2)\} = 2.295$, giving a CCC of $\hat{\rho}_C = 0.8733$.

The asymptotic variance-covariance matrix of the between-subjects, observers and error variance components is

$$\Sigma(\alpha,\beta,\varepsilon) = \begin{pmatrix} 808.50 & 0.0016 & -1.2152 \\ & 0.6510 & -0.0063 \\ & & 4.86 \end{pmatrix}.$$

We estimate a 95% confidence interval for ρ_C using the Z-transformation. The resulting confidence interval is [0.8531 ; 0.8908]. The CCC estimate indicates a high level of agreement between both instruments. Since $(\hat{\sigma}^2_{e} >> \hat{\sigma}^2_{\beta})$, the disagreement is principally due to random error rather than inaccuracy.

Then we consider sex as a potential confounding subject-covariate. Figure 1 shows a scatter plot of the systolic pressure measures of each instrument by sex. It seems that there is a shift depending on sex: males tend to have greater values than females. Table 5 shows the estimate for sex which is significantly different from 0. If sex is included in the model, the variance components become $\hat{\sigma}^2_{\alpha} = 363.024$, $\hat{\sigma}^2_{e} = 52.867$ and $\hat{\sigma}^2_{\beta} = 2.295$ giving a CCC estimate of $\hat{\rho}_C = 0.8681$, which is slightly lower than the former CCC. Now, the asymptotic variance-covariance matrix of the random effects is

$$\Sigma(\alpha,\beta,\varepsilon) = \begin{pmatrix} 741.45 & 0.0016 & -1.2154 \\ & 0.6510 & -0.0063 \\ & & 4.86 \end{pmatrix}.$$

Only the variance of $\hat{\sigma}^2_\alpha$ is modified and becomes a more precise estimate. Now, the 95% confidence interval for CCC is [0.8472 ; 0.8863].

Regarding the variance components estimates, between-observers and error variances remain the same and between-subjects variance decreases, which lowers CCC. This is the consequence of controlling by confounding subject-covariates. The difference of means between sexes increases the between-subjects variance (i.e. the covariance between instruments, see Figure 1) and so the concordance is overestimated. This is a well-known issue concerning measures which depend on covariance (Atkinson and Neville, 1997) like Pearson's correlation coefficient.

Finally, we fit the model using the remaining covariates: age and heart rate. The variance components become $\hat{\sigma}^2_\alpha = 221.391$, $\hat{\sigma}^2_\beta = 2.295$ and $\hat{\sigma}^2_e = 52.867$ and the CCC estimate is $\hat{\rho}_C = 0.8005$. The asymptotic variance-covariance matrix of the variance components is now

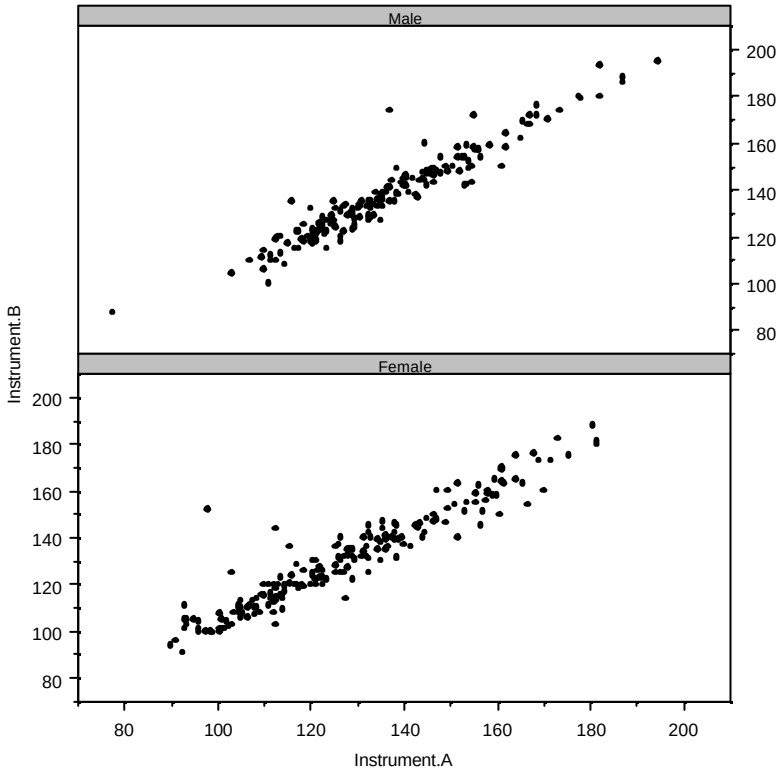
$$\Sigma(\alpha,\beta,\varepsilon) = \begin{pmatrix} 289.99 & 0.0016 & -1.2140 \\ & 0.6510 & -0.0063 \\ & & 4.86 \end{pmatrix}.$$

The 95% confidence interval for the CCC is [0.7709 ; 0.8267]. Though the value of CCC is still indicating a good agreement between both procedures, the CCC adjusted by covariates is quite lower than the former unadjusted CCC.

Table 5. Estimates of the mixed models. The values of random effects are variances, whereas point estimate and standard error (between brackets) are shown for fixed effects.

	Effects	Model 1	Model 2	Model 3
Random	Individual	380.187	363.024	221.391
	Error	52.867	52.867	52.867
Fixed	Intercept	133.369	137.713	84.864
		(1.029)	(1.427)	(5.061)
	Instrument	-2.174	-2.174	-2.174
		(0.371)	(0.371)	(0.371)
	Sex	---	-8.510	-9.496
			(1.980)	(1.585)
	Age	---	---	0.817
				(0.057)
	Heart Rate	---	---	0.194
				(0.069)
Loglikelihood		-5876.413	-5865.769	-5778.271

Figure 1. Scatter plot of systolic blood pressure measured using both measurement instruments by sex. Instrument A is the automatic device whereas Instrument B is the handle device.



6. Discussion

In this article we have shown that the intraclass correlation coefficient (ICC) is a useful measure of agreement among observers if the suitable expression of ICC is chosen. If the observers are a fixed effect, the contribution of the variability of the observers means on the ICC will be a sum of squares rather than a variance. If this source of variability is not included in the ICC, we will be measuring consistency among observers instead of agreement (Shrout and Fleiss,1979) where consistency means that we are only interested in studying the lack of precision ignoring systematic differences among observers. On the other hand, the fact that ICC could take a negative value is related to the estimation process used: if this process allows a negative between-subjects variance estimate then the ICC will be negative, but in that case the covariance between observers would also be negative as well as the CCC.

The concordance correlation coefficient (CCC) was originally introduced as a different index from the ICC, but we have shown that the CCC is identical to the ICC when the observers are a fixed effect and agreement among observers is desired. How Lin (1989) reaches to the expression of CCC is more intuitive and easier to understand than ICC because the idea of measuring departures from the concordance line is very attractive. One important characteristic of the CCC found by Lin (1989) is the decomposition of the CCC into meaningful precision and accuracy components. This can also be done using the variance components approach through the observers and error variances. The observers variance measures the lack of agreement due to inaccuracy whereas the error variance is related to precision. In the example the error variance was much greater than the observer variance, thus the lack of agreement was mainly due to lack of precision.

Although considering observers as a fixed effect is the most common situation in an agreement assay, estimating agreement in a population of observers or measurement methods may be desired; in this case, a random sample of observers should be collected and observers should be considered as a random effect. In this situation even if the point estimate of the CCC was correct (correcting the bias), the standard error, as it was defined by Lin (1989, 2000), would not take into account the variability due to observer sampling.

We have seen that there are two ways to estimate the CCC: the method proposed by Lin based on observers sample moments, and the other based on variance components. It has also been shown that the moment method provides a biased estimation of between-observers variability, which produces a biased CCC. This bias can be seen by comparing the mean of estimates in the simulation study, where the estimates based on variance components are systematically closer to the true value than the moment method estimates.

Through the simulation study it has been shown that the variance components estimation of the CCC is a good approach, giving accurate point estimates as well as standard errors. The Z-transformation is a useful approach to build confidence intervals which improves the asymptotic convergence of the CCC to a normal distribution, while the method based on F-distribution seems to overestimate the nominal cover, especially when there is a difference between observer means. The poor performance of the method based on F-distribution is due to the fact that this method considers observers as a random effect, so this method should be avoided if the observers are not a random sample from a larger population.

Furthermore, estimating the CCC through variance components using a mixed effects model allows the CCC to be easily extended for more than two observers and to be adjusted by potential confounding subject-covariates. The relevance of confounding subject-covariate adjustment has been noted in the example. In general, including confounding covariates will reduce the range of the variable in study and therefore decrease the CCC estimate. Conversely, if the confounding covariates are not included in the model, a higher agreement than the real agreement will be observed. The estimation of the variability between subjects, or covariance between observers, is a very important issue where a covariance-based index is used. The researcher has to achieve an estimate representative of the true variability of the measure between subjects, which implies knowledge of the population where the agreement is used as well as the range of measurements where the agreement has to be measured (Lin and Chinchilli, 1997).

Other procedures have been proposed to obtain a CCC adjusted by subject-covariates. Barnhart and Williamson (2001) proposed three sets of generalized estimation equations to calculate estimations and King and Chinchilli (2001) give the expression for an overall CCC and a stratified CCC. Nevertheless, incorporating the subject-covariates in a mixed effects models seems easier to implement and to understand.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors thank Dr. J. Sala, Dr. R. Macia and Dr. J. Marrugat from the REGICOR Programme, to Dr. R. Tresserras from the Department of Public Health of the University of Barcelona and to Dr. H. Pardell from de CINDI-Catalonia Programme. We also thank Peróxidos Farmacéuticos S.A. for providing automatic blood pressure devices and the mechanisms for simultaneous blood pressure measurements. We also thank Dr. M. Haber, whose comments and suggestions helped us to improve the manuscript. Robin Rycroft from SAL (Universitat de Barcelona) improved the English text.

REFERENCES

Atkinson, G. and Neville, A. (1997). Comment on the use of concordance correlation to assess the agreement between two variables. *Biometrics* **53,** 775-778

Barnhart, H.X. and Williamson, J.M. (2001). Modelling concordance correlation via GEE to evaluate reproducibility. *Biometrics* **57,** 931-940.

Barnhart, H.X., Haber, M. and Song, J. (2002). Overall concordance correlation coefficient for evaluating agreement among multiple observers. *Biometrics* **58**, 1020-1027.

Bartko, J.J. (1966). The intraclass correlation coefficient as a measure of reliability. *Psychological Reports* **19,** 3-11.

Calderone, N.W. and Turcotte, R.M. (1998). Development of sampling methods for estimating levels of Varroa-Jacobsoni (Acari, Varroidae) infestation in colonies of Apis-Mellifera (Hymenoptera, Apidae). *Journal of Economic Entomology* **91,** 851-863.

Cheng, C.L. and van Ness, J.W. (1999). *Statistical Regression with Measurement Error*. Kendall's Library of Statistics. London: Arnold

Fleiss, J.L. (1986). Reliability of Measurement in *The Design and Analysis of Clinical Experiments.* New York: Wiley.

Fleiss, J.L. and Shrout, P.E. (1978). Approximate Interval Estimation for a Certain Intraclass Correlation Coefficient. *Psychometrika* **43,** 259-262.

Kelly, G.E. (1985). Use of the structural equations model in assessing the reliability of a new measurement technique. *Applied Statistics* **34,** 258-263.

King, T.S. and Chinchilli, V.M. (2001). A generalized concordance correlation coefficient for continuous and categorical data. *Statistics in Medicine* **20,** 2131-2147.

Lin, L.I. (1989). A concordance correlation coefficient to evaluate reproducibility. *Biometrics* **45,** 255-268.

Lin, L.I. (1992). Assay validation using the concordance correlation coefficient. *Biometrics* **48,** 599-604.

Lin, L.I. and Chinchilli, V. (1997). Rejoinder to the letter to the editor from Atkinson and Neville. *Biometrics* **53,** 777-778.

Lin, L.I. (2000). A note on the concordance correlation coefficient. *Biometrics* **56,** 324-325.

Nickerson, C.A.E. (1997). Comment on "A Concordance Correlation Coefficient to Evaluate Reproducibility". *Biometrics* **53**, 1503-1507.

Lin, L.I., Hedayat, A.S., Sinha, B. and Yang,M. (2002). Statistical methods in assessing agreement: Models, Issues and Tools. *Journal of American Statistical Association* **97**(457), pp 257-270.

Pearson, K. (1901). Mathematical distributions to the theory of evolution. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London (Series A)* **197,** 385-497.

Robieson, W.Z. (1999). *On the weighted kappa and concordance correlation coefficient*. Ph. D. Thesis, University of Illinois at Chicago, pp 30-41.

Ruel, M.T., Dewey, K.G., Martinez, C., Flores, R. and Brown, K.H. (1997). Validation of single daytime samples of human-milk to estimate the 24-H concentration of lipids in urban Guatemalan mothers. *American Journal of Clinical Nutrition* **65,** 439-444.

Searle, R.S., Casella, G. and McCulloch, C.E. (1992). *Variance Components.* New York: Wiley.

Shrout, P.E. and Fleiss, J.L. (1979). Intraclass correlations: uses in assessing rater reliability. *Psychological Bulletin* **86,** 420-428.

Singh, P. and Jones, R.L. (2002). Comparison of pesticide Root-Zone Model 3.12 – Runoff predictions with field data. *Environmental Toxicology and Chemistry* **21,** 1545-1551.

APPENDIX

To approximate the variance of $\hat{\rho}_C$ the Delta method is used. Given that the derivatives with respect to $\rho_C = \sigma_\alpha^2 / (\sigma_\alpha^2 + \sigma_\beta^2 + \sigma_e^2)$ are

$$\frac{\partial \rho_C}{\partial \sigma_\alpha^2} = \frac{1-\rho_C}{\sigma_\alpha^2 + \sigma_\beta^2 + \sigma_e^2} \qquad \frac{\partial \rho_C}{\partial \sigma_\beta^2} = -\frac{\rho_C}{\sigma_\alpha^2 + \sigma_\beta^2 + \sigma_e^2} \qquad \frac{\partial \rho_C}{\partial \sigma_e^2} = -\frac{\rho_C}{\sigma_\alpha^2 + \sigma_\beta^2 + \sigma_e^2}$$

then

$$\begin{aligned}
\mathrm{Var}(\hat{\rho}_C) \approx & \left(\frac{1-\rho_C}{\sigma_\alpha^2 + \sigma_\beta^2 + \sigma_e^2}\right)^2 \mathrm{Var}(\sigma_\alpha^2) + \left(-\frac{\rho_C}{\sigma_\alpha^2 + \sigma_\beta^2 + \sigma_e^2}\right)^2 \mathrm{Var}(\sigma_\beta^2) + \left(-\frac{\rho_C}{\sigma_\alpha^2 + \sigma_\beta^2 + \sigma_e^2}\right)^2 \mathrm{Var}(\sigma_e^2) + \\
& + 2 \cdot \left(\frac{1-\rho_C}{\sigma_\alpha^2 + \sigma_\beta^2 + \sigma_e^2}\right)\left(-\frac{\rho_C}{\sigma_\alpha^2 + \sigma_\beta^2 + \sigma_e^2}\right) \cdot \mathrm{cov}(\sigma_\alpha^2, \sigma_\beta^2) + 2 \cdot \left(-\frac{\rho_C}{\sigma_\alpha^2 + \sigma_\beta^2 + \sigma_e^2}\right)\left(-\frac{\rho_C}{\sigma_\alpha^2 + \sigma_\beta^2 + \sigma_e^2}\right) \mathrm{cov}(\sigma_e^2, \sigma_\beta^2) + \\
& + 2 \cdot \left(\frac{1-\rho_C}{\sigma_\alpha^2 + \sigma_\beta^2 + \sigma_e^2}\right)\left(-\frac{\rho_C}{\sigma_\alpha^2 + \sigma_\beta^2 + \sigma_e^2}\right) \mathrm{cov}(\sigma_\alpha^2, \sigma_e^2) = \\
= & \frac{(1-\rho_C)^2 \cdot \mathrm{Var}(\sigma_\alpha^2) + \left[\rho_C^2 \cdot \left\{\mathrm{Var}(\sigma_\beta^2) + \mathrm{Var}(\sigma_e^2) + 2\,\mathrm{cov}(\sigma_e^2, \sigma_\beta^2)\right\}\right] - \left[2 \cdot (1-\rho_C) \cdot \rho_C \cdot \left\{\mathrm{cov}(\sigma_\alpha^2, \sigma_\beta^2) + \mathrm{cov}(\sigma_\alpha^2, \sigma_e^2)\right\}\right]}{(\sigma_\alpha^2 + \sigma_\beta^2 + \sigma_e^2)^2}
\end{aligned}$$

If the Z-transformation is used, $Z = 0.5 \log\{(1+\rho_C)/(1-\rho_C)\}$, the standard error can be approximated in the same way, then

$$\mathrm{Var}(Z) \approx \left(\frac{\partial Z}{\partial \rho_C}\right)^2 \cdot \mathrm{Var}(\rho_C) = \frac{\mathrm{Var}(\rho_C)}{(1+\rho_C)^2 \cdot (1-\rho_C)^2}.$$

The standard errors of the variance components will depend on the method of estimation, but when the observers were a fixed effect the quantity σ_β^2 will be a sum of squares

$$\sigma_\beta^2 = \frac{1}{k \cdot (k-1)} \sum_{i=1}^{k-1} \sum_{j=i+1}^{k} (\mu_i - \mu_j)^2$$

estimated by

$$\hat{\sigma}_\beta^2 = \frac{1}{k \cdot (k-1)} \sum_{i=1}^{k-1} \sum_{j=i+1}^{k} (\overline{Y}_i - \overline{Y}_j)^2 - \frac{\hat{\sigma}_e^2}{n \cdot m}.$$

Then the variance of $\hat{\sigma}_\beta^2$ is provided by

$$\mathrm{Var}(\hat{\sigma}_\beta^2) = \frac{4}{k^2 \cdot (k-1)^2} \sum_{i=1}^{k-1} \sum_{j=i+1}^{k} \left\{(\overline{Y}_i - \overline{Y}_j)^2 \cdot \mathrm{Var}(\overline{Y}_i - \overline{Y}_j)\right\} + \frac{\mathrm{Var}(\hat{\sigma}_e^2)}{(n \cdot m)^2}$$

The covariance between $\hat{\sigma}_\beta^2$ and the other variance components depends on method estimation. If the model is estimated via REML (Searle et al., 1992) the covariances are provided by

$$\mathrm{cov}(\hat{\sigma}_\alpha^2, \hat{\sigma}_\beta^2) = \frac{1}{k \cdot n \cdot m^2} \mathrm{Var}(\hat{\sigma}_e^2) \text{ and } \mathrm{cov}(\hat{\sigma}_\beta^2, \hat{\sigma}_e^2) = -\frac{1}{n \cdot m} \mathrm{Var}(\hat{\sigma}_e^2).$$

Estimació del Coeficient de Concordança amb dades de recompte

Introducció

Els procediments utilitzats per mesurar la concordança entre mètodes de mesura (observadors, instruments de mesura, etc.) que mesuren en una escala quantitativa sovint assumeixen que el model de mesura subjacent que genera les dades és lineal, amb efectes additius i amb les dades distribuïdes sota lleis normals. Així el coeficient de correlació intraclasse o el coeficient de variació intra-individu assumeixen el següent model de mesura (Fleiss, 1986)

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \beta_j + e_{ij}$$

on Y_{ij} és la dada corresponent a l'individu *i*-éssim mesurat amb el mètode *j*-éssim amb *i*=1,...,n, *j*=1,...,k; α_i és l'efecte aleatori individu amb $\alpha_i \sim N(0,\sigma_\alpha)$; β_j és l'efecte del mètode de mesura, que tant pot ser fix com aleatori depenent del disseny de les dades; finalment e_{ij} és l'error aleatori que es distribueix sota una normal $e_{ij} \sim N(0,\sigma_e)$.

Sota aquest model el coeficient de correlació intraclasse es defineix com el quocient entre la covariança entre les dades d'un mateix *cluster* o classe respecte la variança marginal de les dades

$$\rho = \frac{\mathrm{cov}(Y_{ij}, Y_{il})}{\mathrm{Var}(Y_{ij})} = \frac{\sigma_\alpha^2}{\sigma_\alpha^2 + \sigma_\beta^2 + \sigma_e^2}$$

On σ_β^2 serà una variança si l'efecte mètode és aleatori, o una suma de quadrats $\sigma_\beta^2 = \frac{1}{k-1}\sum_{j=1}^{k}\beta_j^2$ si és fix (Shrout and Fleiss, 1979; Rousson *et al*, 2002). En aquest darrer cas s'ha demostrat (Carrasco and Jover, 2003) que el coeficient de correlació intraclasse que s'obté és l'anomenat coeficient de concordança (Lin, 1989).

Una altra mesura utilitzada per avaluar la concordança entre mètodes de mesura és el coeficient de variació intra-individu, que es defineix com

$$\mathrm{WCV} = \frac{\sqrt{\sigma_\beta^2 + \sigma_e^2}}{\mu}.$$

Sota aquest model de mesura, el coeficient de correlació intraclasse és depenent de la variabilitat entre individus (covariància entre observadors), mentre que el coeficient de variació intra-individu és independent de la variabilitat entre individus però és depenent de la mitjana.

La consistència de les estimacions dels components de la variància està subjecta al compliment de les assumpcions de linealitat i normalitat dels efectes i de la homocedasticitat de la variància de l'error, sobretot si s'utilitzen mètodes d'estimació basats en la versemblança de les dades, com ara la màxima versemblança (ML) o la màxima versemblança restringida (REML). Quan aquestes assumpcions no es compleixen els investigadors opten per transformar les dades (Cunningham *et al*., 1997) o per utilitzar procediments robustos d'estimació de les variàncies (Padmanabhan *et al*, 1997; King and Chinchilli, 2001).

Aquesta situació és força habitual quan es treballa amb recomptes sense límit superior com ara són els recomptes de cèl·lules, on les transformacions logaritme i arrel quadrada intenten normalitzar les dades. En principi, el desavantatge més notable de transformar les dades és el fet de no treballar amb l'escala original, però tant el coeficient de correlació intraclasse com el coeficient de variació intra-individu són adimensionals i no es veuen afectats per canvis d'escala. Per tant transformar sembla una bona solució, però sempre tenint en compte que s'està ignorant el veritable procés de generació de les dades. D'altre banda el fet d'utilitzar mesures robustes acostuma a comportar l'eliminació o variació de dades, un procediment molt discutible si les dades extremes representen part del rang real de la variabilitat present en la població d'individus en estudi.

Una hipòtesi de treball que sembla plausible en recomptes es considerar que la generació de les dades es produeix sota el següent model de mesura:

$$Y_{ij} \mid \alpha_i \sim \text{Poisson}(\mu_{ij}),\ \alpha_i \sim N(0,\sigma_\alpha) \text{ i } \log(\mu_{ij}) = \mu + \alpha_i + \beta_j .$$

Té sentit pensar que si aquest model és cert, l'estimació de les mesures de concordança derivades de l'estimació de les components d'aquest model seran més consistents que aquelles obtingudes mitjançant transformacions de les dades o procediments robustos.

L'objectiu d'aquest treball és definir aquestes mesures de concordança en el cas de que el procés generador de les dades sigui una mixtura de Poisson i Normal, i estudiar el comportament dels estimadors del coeficient de correlació intraclasse.

Mesures de concordança

Coeficient de correlació intraclasse

Com ha estat mencionat abans, el coeficient de correlació intraclasse (CCI) es defineix com el quocient entre la covariança de les mesures d'una mateix classe o cluster i la variança marginal de les dades. Per tant la correlació entre dues mesures preses a un mateix individu *i* és

$$\rho = \frac{\mathrm{cov}\left(Y_{ij}, Y_{il}\right)}{\mathrm{Var}\left(Y_{ij}\right)}$$

amb $j \neq l$.

La covariança i les variances que apareixen en l'expressió del CCI es refereixen a la distribució marginal de les dades, per tant es necessari definir-les.

Si Y_i és el vector de dades d'un individu l'esperança ve donada per

$$\mathrm{E}\left(Y_i\right) = \mathrm{E}\left[\mathrm{E}\left[y_i \mid \alpha_i\right]\right] = \mathrm{E}\left[\mu_{ij}\right] = \mathrm{E}\left[\exp\left(\mu + \alpha_i + \beta_j\right)\right]$$

Tot i que la majoria de les vegades l'efecte mètode serà formalment un efecte fix i per tant no se'l considerarà un component de la variància, per definir un CCI que mesuri concordança entre instruments és convenient tenir en compte la variabilitat entre instruments i considerar-lo com un efecte aleatori, $\beta_j \sim \mathrm{N}\left(0, \sigma_\beta\right)$, independentment de com sigui considerat en el procés d'estimació (Carrasco and Jover, 2003). Així, assumint que els efectes individu i instrument són independents i distribuïts normalment s'arriba a (McCulloch and Searle, 2001)

$$\mathrm{E}\left(Y_i\right) = \exp\left(\mu\right)\mathrm{E}\left[\exp\left(\alpha_i + \beta_j\right)\right] = \exp\left(\mu\right)\mathrm{M}_u\left(\alpha_i + \beta_j\right) = \exp\left(\mu + \frac{\sigma_\alpha^2 + \sigma_\beta^2}{2}\right)$$

on M_u és la funció generatriu de moments.

L'expressió de la variança ve donada per

$$\mathrm{Var}\left(Y_i\right) = \mathrm{Var}\left(\mathrm{E}\left[Y_i \mid \alpha_i\right]\right) + \mathrm{E}\left[\mathrm{Var}\left(Y_i \mid \alpha_i\right)\right] = \mathrm{Var}\left(\mu_i\right) + \mathrm{E}\left(\mu_i\right) = \ldots = \mathrm{E}\left[Y_i\right] \cdot \left\{\mathrm{E}\left[Y_i\right]\left(e^{\sigma_\alpha^2 + \sigma_\beta^2} - 1\right) + 1\right\}$$

i la covariança per

$$\mathrm{cov}\left(Y_{ij}, Y_{il}\right) = \mathrm{E}\left[Y_i\right]^2 \cdot \left(e^{\sigma_\alpha^2} - 1\right).$$

D'aquesta manera l'expressió del coeficient de correlació intraclasse, quan s'assumeix que la distribució de les dades condicionada als individus és Poisson, que l'efecte individu es distribueix sota una Normal i que la funció d'enllaç entre la mitjana i les covariables és el logaritme, és

$$\rho = \frac{\mathrm{cov}\left(Y_{ij}, Y_{il}\right)}{\mathrm{Var}\left(Y_i\right)} = \frac{\mathrm{E}\left[Y_i\right]^2\left(e^{\sigma_\alpha^2} - 1\right)}{\mathrm{E}\left[Y_i\right] \cdot \left\{\mathrm{E}\left[Y_i\right]\left(e^{\sigma_\alpha^2 + \sigma_\beta^2} - 1\right) + 1\right\}} = \frac{\mathrm{E}\left[Y_i\right] \cdot \left(e^{\sigma_\alpha^2} - 1\right)}{\mathrm{E}\left[Y_i\right] \cdot \left(e^{\sigma_\alpha^2 + \sigma_\beta^2} - 1\right) + 1}$$

Per tant, el coeficient de correlació intraclasse és funció de la variabilitat entre individus, de la variabilitat entre mètodes i de la mitjana de les dades, essent aquests els components de la variància en aquest model.

Cal fer esment de que encara que es transformin les dades i s'utilitzi l'expressió per dades normals, la dependència sobre la mitjana continuarà estant implícita, donat que aquesta

dependència prové de la relació que hi ha entre la covariància i variància de les dades originals amb la mitjana.

A més a més, el fet de que el coeficient de correlació intraclasse depengui de la mitjana implica que la introducció de qualsevol variable confusora en el model modificarà la mitjana i per tant actuarà com una interacció respecte el CCI, és a dir, s'obtindrà un CCI diferent per a cada patró de covariables. Aquest fet és ignorat quan es realitza l'anàlisi sota un model normal, bé amb la variable original o bé transformant-la.

Coeficient de variació intraindividu

El coeficient de variació intra-individu es defineix com el quocient de la variabilitat intra-individu expressada com a desviació estàndard respecte la mitjana global de les dades. Aquesta variabilitat en el model que s'està assumint és heterocedàstica donat que depèn de la mitjana de cada individu, és a dir,

$$\mathrm{Var}\left(y_i \mid \alpha_i\right) = \mathrm{E}\left[y_i \mid \alpha_i\right] = \exp\left(\mu + \alpha_i + \beta_j\right) = \exp\left(\mu + \alpha_i + \frac{\sigma_\beta^2}{2}\right)$$

L'expressió del coeficient de variació intra-individu és

$$\mathrm{WCV} = \frac{\sqrt{\mathrm{Var}\left(y_i \mid \alpha_i\right)}}{\mathrm{E}\left(y_i\right)} = \frac{\exp\left(\frac{\mu + \alpha_i}{2} + \frac{\sigma_\beta^2}{4}\right)}{\exp\left(\mu + \frac{\sigma_\alpha^2 + \sigma_\beta^2}{2}\right)} = \exp\left\{-\frac{1}{2}\left[\mu + \left(\sigma_\alpha^2 - \alpha_i\right) + \frac{\sigma_\beta^2}{2}\right]\right\}$$

Com es pot observar el WCV variarà d'individu a individu, fet totalment esperable si es té en compte que el model es heteroscedastic per definició. A més a més, el WCV no tan sols és depenent de la mitjana sinó que també depèn de la variabilitat entre individus, per tant la seva principal virtut en el model normal és perd sota el present model. A l'igual que en el cas del CCI aquesta dependència continuarà manifestant-se encara que es transformin les dades.

No obstant, aquesta mesura continua essent útil com a diagnòstic de la concordança, i pot servir per avaluar quins individus són els que concorden més o menys i detectar possibles outliers.

Per salvar el problema de tenir un WCV per a cada individu es podria considerar el WCV en la mitjana de l'efecte individu, $\mathrm{E}\left(\alpha_i\right) = 0$, aleshores

$$\mathrm{AWCV} = \exp\left\{-\frac{1}{2}\left[\mu + \sigma_\alpha^2 + \frac{\sigma_\beta^2}{2}\right]\right\}$$

Cal destacar que si en lloc d'utilitzar el coeficient de variació intra-individu es fa servir l'índex d'agregació, les mesures que s'obtenen són

$$\mathrm{AI} = \frac{\mathrm{Var}(y_i \mid \alpha_i)}{\mathrm{E}(y_i)} = \frac{\exp\left(\mu + \alpha_i + \frac{\sigma_\beta^2}{2}\right)}{\exp\left(\mu + \frac{\sigma_\alpha^2 + \sigma_\beta^2}{2}\right)} = \exp\left\{\alpha_i - \frac{\sigma_\alpha^2}{2}\right\}$$

i $\mathrm{AAI} = \exp\left\{-\frac{\sigma_\alpha^2}{2}\right\}$

mesura que tan sols depèn de la variabilitat entre individus.

Estimació

Sigui $f(Y \mid u)$ la funció de densitat de les dades condicionada als efectes aleatoris, i $f(u)$ la funció de densitat dels efectes aleatoris. La versemblança de les dades ve donada per

$$L = \int f(Y \mid u) f(u) du$$

En el cas dels models mixtes normals s'assumeix que tant $f(Y \mid u)$ com $f(u)$ es distribueixen sota distribucions Normals, i la funció d'enllaç entre la mitjana de la variable resposta i les variables explicatives és la identitat. Aleshores la integral es pot resoldre i L té un forma tancada que es pot maximitzar, concretament

$$\log L \propto -\frac{1}{2}(Y-\mu)' V^{-1}(Y-\mu) - \frac{1}{2}\log|V|$$

on Y és el vector de respostes, μ és el vector de mitjanes que inclou els efectes fixes, V és la matriu de variàncies i covàriancies de les dades

$$V = ZDZ' + R$$

essent Z la matriu de disseny dels efectes aleatoris, D la matriu de variàncies i covariàncies dels efectes aleatoris i R la matriu de variàncies dels residuals.

La dificultat en la maximització de L (o logL) depèn de l'estructura dels efectes aleatoris, així en el cas d'un únic efecte aleatori l'expressió dels estimadors dels efectes fixes i dels components de la variància es pot derivar analíticament (Searle *et al*. 1992), però amb estructures més complicades l'estimació per màxima versemblança s'ha de dur a terme amb mètodes iteratius com l'algoritme Fisher-Scoring.

Una alternativa a l'estimació dels components de la variància per màxima versemblança és la màxima versemblança restringida (REML), la qual maximitza la versemblança de combinacions lineals de Y de forma que la versemblança resultant no inclou els efectes fixes. D'aquesta manera l'estimació dels components de la variància es duu a terme amb

independència de l'estimació dels efectes fixes i tenint en compte la pèrdua de graus de llibertat, resultant estimadors no esbiaixats dels components de la variància.

Els models mixtes lineals generalizats (GLMM) permeten que tant la distribució $f(Y|\alpha)$ com $f(\alpha)$ siguin qualsevol de la família exponencial, així com que la funció d'enllaç entre la mitjana i les variables explicatives sigui no lineal. Per tant, el model mixt normal és un cas particular dels models mixtes generalitzats.

La primera dificultat dels GLMM es resoldre la integral per trobar l'expressió de la versemblança. Aquesta integral sovint és difícil de resoldre, sobretot amb estructures complicades dels efectes aleatoris. En el cas d'un sol efecte aleatori, la integral es pot aproximar pel mètode de la quadratura Gauss-Hermite i maximitzar la versemblança resultant. Aquest mètode també funciona per dos efectes aleatoris aniuats, però no per dos efectes creuats o més efectes aniuats (McCulloch and Searle, 2001). Entre les alternatives d'estimació que han estat considerades es pot trobar els algoritmes *Markov Chain Monte Carlo* (Robert and Casella, 1999) basats en estimació bayesiana, o d'altres fonamentats en simular la versemblança (Mc Culloch, 1997).

Breslow and Clayton (1993) van proposar que la funció de densitat de les dades condicionada als efectes aleatoris, $f(Y|u)$, fos la quasi-versemblança (McCullagh and Nelder, 1989), i que $f(u)$ fos una Normal. Aleshores van resoldre la integral per trobar la versemblança mitjançant el mètode d'aproximacions de Laplace, resultant una log-versemblança proporcional a

$$\mathrm{PQL} = \log f(Y|u) - \frac{1}{2}u'D^{-1}u$$

on el logaritme de la quasi-versemblaça es veu "penalitzat" per un terme depenent dels efectes aleatoris. Aquest fet va fer que aquest mètode d'estimació s'anomenés *penalized quasi-likelihood* (PQL). Els efectes fixes i aleatoris (u) són estimats maximitzant PQL, mentre que els components de la variància s'estimen mitjançant la REML dels efectes aleatoris. El procés d'estimació és iteratiu on tant els efectes fixes i aleatoris com els components de la variància es van actualitzant fins aconseguir la convergència de les estimacions a una solució.

El mètode PQL s'ha popularitzat força perquè al treballar amb la quasi-versemblança tan sols s'ha de definir la relació entre la mitjana i la variància de les dades condicionades als efectes aleatoris, així com la funció d'enllaç entre la mitjana i les covariables. No obstant, s'ha demostrat (Breslow and Lin, 1995; Lin and Breslow, 1996) que les estimacions PQL són força esbiaixades si la distribució real de les dades condicionades als efectes aleatoris s'allunya de la Normal, com en el cas de la Binomial. Tot i això, si la distribució és Poisson amb una mitjana de 7 o superior el mètode funciona correctament.

Error estàndard

En aquest apartat s'exposarà l'expressió de l'error estàndard del CCI si és estimat amb el model mixt generalitzat Poisson-Normal. L'expressió de l'error estàndard així com d'altres aspectes inferencials referents al CCI pel cas Normal-Normal es poden trobar a Carrasco i Jover (2003).

Donat que el CCI en el model Poisson-Normal és funció de la mitjana, la variància entre individus i la variabilitat dels mètodes, el seu error estàndard també serà funció de l'error estàndard d'aquests paràmetres. Aquest s'aproxima mitjançant el mètode delta

$$\mathrm{Var}(\hat{\rho}) \approx \left(\frac{\delta\rho}{\delta\mu}\right)^2 \mathrm{Var}(\hat{\mu}) + \left(\frac{\delta\rho}{\delta\sigma^2_\alpha}\right)^2 \mathrm{Var}(\hat{\sigma}^2_\alpha) + \left(\frac{\delta\rho}{\delta\sigma^2_\alpha}\right)^2 \mathrm{Var}(\hat{\sigma}^2_\beta) + 2\left(\frac{\delta\rho}{\delta\mu}\right)\left(\frac{\delta\rho}{\delta\sigma^2_\alpha}\right)\mathrm{cov}(\hat{\mu}, \hat{\sigma}^2_\alpha) +$$
$$+ 2\left(\frac{\delta\rho}{\delta\mu}\right)\left(\frac{\delta\rho}{\delta\sigma^2_\beta}\right)\mathrm{cov}(\hat{\mu}, \hat{\sigma}^2_\beta) + 2\left(\frac{\delta\rho}{\delta\sigma^2_\alpha}\right)\left(\frac{\delta\rho}{\delta\sigma^2_\beta}\right)\mathrm{cov}(\hat{\sigma}^2_\alpha, \hat{\sigma}^2_\beta)$$

Les expressions de les variàncies i covariàncies dependran del mètode d'estimació, sobretot de com es dugui a terme l'estimació de l'efecte observador. Així, si tenim dos observadors i aquest efecte es considera fix, els paràmetres d'interès a estimar serien μ (intercept), β_1 (efecte mètode) i σ^2_α (variància entre individus). Aleshores, sota l'assumpció de que els components de la variància i els efectes fixes no covarien (Searle *et al*, 1992) es pot assumir que la única covariància diferent de 0 és

$$\mathrm{cov}(\hat{\mu}, \hat{\sigma}^2_\beta) = \mathrm{cov}\left(\hat{\mu}, \frac{1}{2}\hat{\beta}^2_1\right) = \frac{1}{2}\mathrm{cov}(\hat{\mu}, \hat{\beta}^2_1) \approx \hat{\beta}_1 \cdot \mathrm{cov}(\hat{\mu}, \hat{\beta}_1)$$

En canvi, si l'efecte observador és aleatori distribuït sota una Normal de variància σ^2_β, l'única covariància diferent de 0 serà $\mathrm{cov}(\hat{\sigma}^2_\alpha, \hat{\sigma}^2_\beta)$.

Les variàncies i covariàncies de les estimacions dels components de la variància s'aproximaran mitjançant la inversa de la matriu d'informació de Fisher.

Aquí ens centrarem en la situació de dos observadors i l'efecte mètode fix, aleshores

$$\mathrm{Var}(\hat{\rho}) \approx \left(\frac{\delta\rho}{\delta\mu}\right)^2 \mathrm{Var}(\hat{\mu}) + \left(\frac{\delta\rho}{\delta\sigma^2_\alpha}\right)^2 \mathrm{Var}(\hat{\sigma}^2_\alpha) + \left(\frac{\delta\rho}{\delta\sigma^2_\alpha}\right)^2 \mathrm{Var}(\hat{\sigma}^2_\beta) + 2\left(\frac{\delta\rho}{\delta\mu}\right)\left(\frac{\delta\rho}{\delta\sigma^2_\beta}\right)\mathrm{cov}(\hat{\mu}, \hat{\sigma}^2_\beta)$$

Derivades

$$\frac{\partial \rho}{\partial \mu} = \rho\left[1-\rho\frac{\exp\left(\sigma_\alpha^2+\sigma_\beta^2\right)-1}{\exp\left(\sigma_\alpha^2\right)-1}\right];\ \frac{\partial \rho}{\partial \sigma_\alpha^2} = \frac{\rho}{2\left[\exp\left(\sigma_\alpha^2-1\right)\right]}\left[3\exp\left(\sigma_\alpha^2\right)-1-\left\{\rho\left(3\exp\left(\sigma_\alpha^2+\sigma_\beta^2\right)-1\right)\right\}\right];$$

$$\frac{\partial \rho}{\partial \sigma_\beta^2} = \frac{\rho}{2\left[\exp\left(\sigma_\alpha^2-1\right)\right]}\left[\exp\left(\sigma_\alpha^2\right)-1-\left\{\rho\left(3\exp\left(\sigma_\alpha^2+\sigma_\beta^2\right)-1\right)\right\}\right]$$

Estimació per interval

L'estimació per interval del coeficient de correlació intraclasse es durà a terme utilitzant la transformació Z de Fisher,

$$Z_C = \tanh^{-1}\left(\rho_C\right) = 0.5\cdot\ln\left\{\left(1+\rho_C\right)/\left(1-\rho_C\right)\right\}$$

Aquesta transformació s'ha utilitzat amb èxit pel casos del coeficient de correlació de Pearson i el coeficient de correlació intraclasse amb el model mixt Normal, distribuint-se Z_C sota una Normal.

Pel cas del model Poisson-Normal aquesta transformació també hauria de funcionar si les estimacions són consistents. Així, un altre objectiu d'aquest treball serà comprovar si el procediment de la transformació Z és útil en aquest cas.

Exemples

Es desitja avaluar la concordança entre quatre mètodes de recomptes de CD4, que anomenarem A, B, C i D, els quals són comparats dos a dos. La concordança entre els mètodes es valora mitjançant el coeficient de correlació intraclasse, que és estimat mitjançant un model mixt normal utilitzant com a resposta la variable original i transformada, considerant les transformacions logarítmiques i arrel quadrada. També s'estima el CCI mitjançant un model mixt generalitzat assumint que els efectes mixtes es distribueixen sota una normal i que la distribució de la variabilitat intra-individu és Poisson, utilitzant com a procediment d'estimació el *penalized quasi-likelihood*. Per estimar els models mixtes normals s'ha utilitzat la funció **lme** del programa S-Plus v.6.1 (Venables and Ripley, 1999) i per fer les estimacions PQL s'ha utilitzat la funció **glmm.PQL** que es troba dins de la llibreria MASS disponible a http://www.stats.ox.ac.uk/pub/MASS4/.

Per la comparació entre els mètodes es donen els gràfics de residus, les estimacions puntuals i l'error estàndard del CCI.

Dels resultats (Apèndix I) es pot derivar que, en general, l'estimació del coeficient de correlació intraclasse amb el model mixt generalitzat tendeix a donar valors superiors que la resta de mètodes, tret de la comparació B-C on les estimacions són similars. Donat que el

valor real del CCI és desconegut no es pot concloure si els models mixtes normals l'infraestimen o si el GLMM el sobreestima.

Pel que fa al comportament dels residuals, els derivats del GLMM sempre tenen un comportament similar o millor que la resta. D'altre banda, l'error estàndard estimat per GLMM és sistemàticament inferior.

Simulació

Amb l'objectiu d'analitzar el comportament de l'estimació del coeficient de correlació intraclasse quan és estimat utilitzant models lineals mixtes (normal-normal) i models lineals mixtes generalitzats (normal-poisson), es duu a terme un estudi de simulació on dos observadors són comparats. Les dades seran generades mitjançant una mixtura de Poisson per la variabilitat intra-individu i de Normal per l'efecte individu, utilitzant el logaritme com funció d'enllaç entre la mitjana i els efectes. L'efecte observador es considera fix.

Les situacions que es generaran es representen a la Taula 7. Aquestes combinen diferents valors de mitjanes, variància entre individus i variabilitat entre mètodes. Es consideren mides mostrals de 30 i 100 individus. Per a cada combinació es generaran 1000 mostres i el CCI serà estimat mitjançant un model mixt normal amb la variable original, transformada logarítmicament i per l'arrel quadrada, i amb un GLMM amb una mixtura Poisson-Normal estimat per PQL.

El comportament de les estimacions s'ha avaluat tant en termes de biaix com de precisió. El biaix s'ha estimat com a diferència entre la mitjana de les estimacions i el valor real simulat, mentre que la precisió s'ha valorat calculant la desviació típica de les estimacions. Amb l'objectiu d'avaluar si l'error estàndard és estimat correctament s'ha comparat la desviació típica de les estimacions amb la mitjana dels errors estàndards, calculada aquesta com l'arrel quadrada de la mitjana de les variàncies estimades. La consistència de les estimacions s'ha avaluat mitjançant l'error quadràtic mig, el qual es troba composat pel biaix al quadrat més la variància de les estimacions. Aquests resultats es mostren a la Taula 8.

Finalment s'ha estimat el cobriment dels intervals de confiança del 95%, el quals han estat construïts utilitzant la transformació Z de Fisher.

Taula 7. Combinacions simulades

Combinació	μ	σ^2_β	σ^2_α	E(Y)	ρ
1	2	0	0.25	8.37	0.7040
2			0.5	9.49	0.8602
3		0.25	0.25	9.49	0.3766
4			0.5	10.75	0.5361
5	5	0	0.25	168.17	0.9795
6			0.5	190.57	0.9920
7		0.25	0.25	190.57	0.4343
8			0.5	215.94	0.5784
9	8	0	0.25	3377.87	0.9990
10			0.5	3827.63	0.9996
11		0.25	0.25	3827.63	0.4376
12			0.5	4337.27	0.5807

Dels resultats hom pot extreure que en termes de biaix el model que millor funciona és el "Normal" tot i que el "PQL" es mou sempre en valors de biaix petits i propers als aconseguits pel "Normal", arribant a un màxim del 5,59% a al combinació 3. El més remarcable pel que fa al biaix és el mal comportament de les transformacions, sobretot del logaritme amb biaixos relatius per sobre del 10% en la majoria de combinacions.

Respecte la precisió de les estimacions, amb el procediment "PQL" s'obtenen sistemàticament valors inferiors de variabilitat de les estimacions, essent el model "Normal" el que dona uns valors més grans de variabilitat.

Pel que fa a l'estimació de l'error estàndard, en la majoria de casos el biaix en "PQL" és el més baix arribant a un màxim del 13,27% a la combinació 6 amb una mida mostral de 30. El model "Normal" és el que pitjor estima l'error estàndard arribant a un biaix del 48,81% a la combinació 12 amb una mida mostral de 30 individus. En referència a les transformacions, es comporten millor que el model "Normal", però en cap cas semblen superiors al model "PQL".

Si ens centrem en la consistència, s'ha de dir que en general els errors quadràtics han estat petits, obtenint-se els valors més baixos amb el procediment "PQL". El cas "Normal" sempre apareix amb valors similars o més baixos que les transformacions, per la qual cosa , en termes de consistència, té un comportament millor.

Respecte els cobriments, el procediment "Normal" tan sols dona uns cobriments correctes en les combinacions 3 i 4, sobreestimant el cobriment nominal en les combinacions 7,8,11 i 12. També es posa de manifest que els cobriments en els procediments que impliquen transformacions són força dolents, sobretot en el cas del logaritme que en alguns casos no arriba a un cobriment del 10%. Pel que fa al procediment "PQL" els cobriments són molt correctes en tots els casos, trobant-se que la transformació Z no millora els cobriments en general.

També s'ha estudiat l'aproximació a la distribució Normal de les estimacions del CCI quan aquest s'estima per PQL. En els casos en que s'utilitza un model normal ja ha estat comprovat que el CCI es distribueix assimptòticament sota una Normal per mides mostrals grans, i que la transformació Z millora considerablement l'aproximació (Carrasco and Jover, 2003). Però en el cas del PQL el procés d'estimació no és del tot màxim versemblant, pel que sembla interessant analitzar si aquesta aproximació a la Normal es manté. Amb aquesta finalitat s'han construït gràfics *quantile-quantile* amb les estimacions realitzades de l'CCI amb PQL i de la transformació Z d'aquestes estimacions (Apèndix II). Amb l'ajut d'aquests gràfics es pot observar que l'aproximació assimptòtica a la Normal del CCI és molt bona en les combinacions en que hi ha variabilitat entre mètodes i amb una mida mostral de 100. Quan s'aplica la transformació Z l'aproximació millora considerablement fins i tot amb una mida mostral de 30.

Taula 8a. Resultats de la simulació. Combinacions 1, 2, 3 i 4.

Comb	n	Mètode estimació	Mitjana estimacions	Desviació estàndard estimacions	Mitjana errors estàndard	Biaix	Biaix relatiu (%)	Biaix error estàndard (%)	Biaix relatiu error estàndard (%)	Error Quadràtic Mig (%)
1	30	Normal	0,6732	0,125198	0,097992	-0,0308	-4,37	-2,721	-21,73	1,662
		Log	0,6090	0,122380	0,113142	-0,0950	-13,49	-0,924	-7,55	2,400
		Arrel	0,6438	0,117226	0,105428	-0,0602	-8,55	-1,180	-10,06	1,737
		PQL	0,6680	0,100062	0,096155	-0,0360	-5,12	-0,391	-3,90	1,131
	100	Normal	0,6911	0,068891	0,051939	-0,0129	-1,83	-1,695	-24,61	0,491
		Log	0,6071	0,066005	0,062890	-0,0968	-13,76	-0,311	-4,72	1,374
		Arrel	0,6497	0,063096	0,057580	-0,0543	-7,71	-0,552	-8,74	0,693
		PQL	0,6888	0,053103	0,051188	-0,0152	-2,16	-0,191	-3,61	0,305
2	30	Normal	0,8214	0,081633	0,058937	-0,0389	-4,52	-2,270	-27,80	0,817
		Log	0,7468	0,087979	0,080254	-0,1135	-13,19	-0,773	-8,78	2,062
		Arrel	0,7883	0,079580	0,068824	-0,0719	-8,36	-1,076	-13,52	1,151
		PQL	0,8295	0,069959	0,064767	-0,0307	-3,57	-0,519	-7,42	0,584
	100	Normal	0,8455	0,046752	0,028422	-0,0148	-1,72	-1,833	-39,21	0,240
		Log	0,7554	0,044865	0,042898	-0,1048	-12,19	-0,197	-4,38	1,300
		Arrel	0,8023	0,041738	0,035627	-0,0579	-6,73	-0,611	-14,64	0,510
		PQL	0,8486	0,034235	0,033414	-0,0116	-1,35	-0,082	-2,40	0,131
3	30	Normal	0,3824	0,096175	0,098036	0,0057	1,52	0,186	1,94	0,928
		Log	0,3981	0,091845	0,092386	0,0215	5,70	0,054	0,59	0,890
		Arrel	0,4065	0,089984	0,091179	0,0298	7,92	0,119	1,33	0,899
		PQL	0,3556	0,082359	0,081148	-0,0211	-5,59	-0,121	-1,47	0,723
	100	Normal	0,3950	0,057642	0,054162	0,0183	4,87	-0,348	-6,04	0,366
		Log	0,4046	0,050988	0,050847	0,0280	7,42	-0,014	-0,28	0,338
		Arrel	0,4152	0,051321	0,050113	0,0386	10,25	-0,121	-2,35	0,412
		PQL	0,3674	0,046751	0,045697	-0,0093	-2,46	-0,105	-2,26	0,227
4	30	Normal	0,5238	0,090107	0,099289	-0,0123	-2,30	0,918	10,19	0,827
		Log	0,5676	0,083878	0,086615	0,0315	5,87	0,274	3,26	0,803
		Arrel	0,5739	0,080969	0,085976	0,0377	7,04	0,501	6,18	0,798
		PQL	0,5118	0,077149	0,080124	-0,0243	-4,54	0,298	3,86	0,654
	100	Normal	0,5438	0,056986	0,053908	0,0077	1,44	-0,308	-5,40	0,331
		Log	0,5697	0,047340	0,047689	0,0336	6,26	0,035	0,74	0,337
		Arrel	0,5822	0,047543	0,046829	0,0461	8,59	-0,071	-1,50	0,438
		PQL	0,5231	0,044817	0,044559	-0,0130	-2,42	-0,026	-0,58	0,218

Taula 8b. Resultats de la simulació. Combinacions 5, 6, 7 i 8.

Comb	n	Mètode estimació	Mitjana estimacions	Desviació estàndard estimacions	Mitjana errors estàndard	Biaix	Biaix relatiu (%)	Biaix error estàndard (%)	Biaix relatiu error estàndard (%)	Error Quadràtic Mig (%)
5	30	Normal	0,9762	0,010988	0,008696	-0,0033	-0,33	-0,229	-20,86	0,013
		Log	0,9685	0,011853	0,011487	-0,0110	-1,13	-0,037	-3,08	0,026
		Arrel	0,9739	0,010538	0,009549	-0,0056	-0,57	-0,099	-9,39	0,014
		PQL	0,9758	0,008950	0,007958	-0,0037	-0,37	-0,099	-11,07	0,009
	100	Normal	0,9779	0,005723	0,004389	-0,0016	-0,16	-0,133	-23,31	0,004
		Log	0,9696	0,006074	0,006009	-0,0099	-1,01	-0,006	-1,06	0,013
		Arrel	0,9751	0,005242	0,004939	-0,0044	-0,45	-0,030	-5,80	0,005
		PQL	0,9784	0,004114	0,003946	-0,0011	-0,11	-0,017	-4,09	0,002
6	30	Normal	0,9896	0,005538	0,003849	-0,0024	-0,24	-0,169	-30,50	0,004
		Log	0,9822	0,007269	0,006532	-0,0098	-0,98	-0,074	-10,14	0,015
		Arrel	0,9876	0,005414	0,004563	-0,0044	-0,44	-0,085	-15,71	0,005
		PQL	0,9901	0,004516	0,003916	-0,0019	-0,19	-0,060	-13,27	0,002
	100	Normal	0,9909	0,002952	0,001826	-0,0011	-0,11	-0,113	-38,14	0,001
		Log	0,9827	0,003537	0,003439	-0,0092	-0,93	-0,010	-2,76	0,010
		Arrel	0,9884	0,002579	0,002308	-0,0035	-0,36	-0,027	-10,52	0,002
		PQL	0,9915	0,002016	0,001915	-0,0005	-0,05	-0,010	-5,03	<0,001
7	30	Normal	0,4379	0,065559	0,084334	0,0036	0,82	1,878	28,64	0,431
		Log	0,4879	0,067050	0,066582	0,0536	12,33	-0,047	-0,70	0,736
		Arrel	0,4761	0,066333	0,071440	0,0418	9,63	0,511	7,70	0,615
		PQL	0,4207	0,058872	0,057175	-0,0136	-3,14	-0,170	-2,88	0,365
	100	Normal	0,4481	0,040819	0,046567	0,0138	3,17	0,575	14,08	0,186
		Log	0,4927	0,036335	0,036518	0,0584	13,45	0,018	0,50	0,473
		Arrel	0,4822	0,037861	0,039219	0,0479	11,02	0,136	3,59	0,373
		PQL	0,4301	0,032108	0,031799	-0,0043	-0,98	-0,031	-0,96	0,105
8	30	Normal	0,5702	0,061130	0,089008	-0,0081	-1,41	2,788	45,60	0,380
		Log	0,6539	0,061874	0,060189	0,0755	13,05	-0,169	-2,72	0,953
		Arrel	0,6342	0,061550	0,068633	0,0558	9,65	0,708	11,51	0,690
		PQL	0,5649	0,053856	0,051094	-0,0135	-2,33	-0,276	-5,13	0,308
	100	Normal	0,5847	0,039287	0,048694	0,0063	1,09	0,941	23,95	0,158
		Log	0,6588	0,032291	0,032772	0,0804	13,90	0,048	1,49	0,751
		Arrel	0,6417	0,035041	0,037363	0,0633	10,94	0,232	6,63	0,523
		PQL	0,5738	0,028004	0,027961	-0,0046	-0,79	-0,004	-0,15	0,081

Taula 8c. Resultats de la simulació. Combinacions 9, 10, 11 i 12.

Comb	n	Mètode estimació	Mitjana estimacions	SD estimacions	Mitjana errors estàndard	Biaix	Biaix relatiu (%)	Biaix error estàndard (%)	Biaix relatiu error estàndard (%)	Error Quadràtic Mig (%)
9	30	Normal	0,9988	0,000537	0,000458	-0,0002	-0,02	-0,008	-14,70	<0,001
		Log	0,9984	0,000569	0,000599	-0,0006	-0,06	0,003	5,27	<0,001
		Arrel	0,9987	0,000505	0,000500	-0,0003	-0,03	0,000	-0,94	<0,001
		PQL	0,9988	0,000460	0,000409	-0,0002	-0,02	-0,005	-11,11	<0,001
	100	Normal	0,9989	0,000293	0,000224	-0,0001	-0,01	-0,007	-23,60	<0,001
		Log	0,9984	0,000292	0,000312	-0,0005	-0,05	0,002	6,82	<0,001
		Arrel	0,9987	0,000257	0,000254	-0,0002	-0,02	0,000	-1,06	<0,001
		PQL	0,9989	0,000211	0,000201	-0,0001	-0,01	-0,001	-4,70	<0,001
10	30	Normal	0,9995	0,000279	0,000200	-0,0001	-0,01	-0,008	-28,18	<0,001
		Log	0,9991	0,000327	0,000334	-0,0005	-0,05	0,001	2,04	<0,001
		Arrel	0,9994	0,000256	0,000234	-0,0002	-0,02	-0,002	-8,63	<0,001
		PQL	0,9995	0,000224	0,000197	-0,0001	-0,01	-0,003	-11,96	<0,001
	100	Normal	0,9995	0,000161	0,000094	-0,0001	-0,01	-0,007	-41,90	<0,001
		Log	0,9991	0,000182	0,000178	-0,0005	-0,05	0,000	-2,22	<0,001
		Arrel	0,9994	0,000137	0,000118	-0,0002	-0,02	-0,002	-13,41	<0,001
		PQL	0,9996	0,000101	0,000096	0,0000	0,00	-0,001	-5,30	<0,001
11	30	Normal	0,4422	0,063691	0,083540	0,0046	1,04	1,985	31,16	0,408
		Log	0,4949	0,068073	0,064538	0,0572	13,07	-0,354	-5,19	0,791
		Arrel	0,4815	0,066190	0,070126	0,0438	10,01	0,394	5,95	0,630
		PQL	0,4260	0,059000	0,054978	-0,0116	-2,65	-0,402	-6,82	0,362
	100	Normal	0,4516	0,039213	0,046091	0,0139	3,19	0,688	17,54	0,173
		Log	0,4984	0,036008	0,035408	0,0608	13,89	-0,060	-1,67	0,499
		Arrel	0,4864	0,037028	0,038485	0,0488	11,15	0,146	3,93	0,375
		PQL	0,4343	0,031203	0,030547	-0,0034	-0,77	-0,066	-2,10	0,098
12	30	Normal	0,5728	0,059431	0,088439	-0,0078	-1,35	2,901	48,81	0,359
		Log	0,6591	0,061973	0,058074	0,0785	13,52	-0,390	-6,29	1,000
		Arrel	0,6374	0,061138	0,067564	0,0568	9,78	0,643	10,51	0,696
		PQL	0,5678	0,053070	0,048801	-0,0129	-2,22	-0,427	-8,04	0,298
	100	Normal	0,5878	0,038702	0,048319	0,0071	1,23	0,962	24,85	0,155
		Log	0,6644	0,032068	0,031591	0,0838	14,43	-0,048	-1,49	0,805
		Arrel	0,6453	0,034760	0,036754	0,0646	11,13	0,199	5,73	0,538
		PQL	0,5771	0,027280	0,026652	-0,0036	-0,62	-0,063	-2,30	0,076

Taula 9. Cobriments dels intervals de confiança

		Normal		Logaritme		Arrel		PQL	
Comb	n	Asymp	Z-trans	Asymp	Z-trans	Asymp	Z-trans	Asymp	Z-trans
1	30	88,0	86,7	93,3	85,5	93,5	87,9	94,1	93,0
	100	85,9	84,7	69,8	61,0	88,5	81,2	95,0	92,6
2	30	86,3	80,2	85,6	61,3	92,2	78,2	93,8	90,4
	100	77,3	72,8	23,4	15,4	68,6	54,9	94,9	92,6
3	30	94,4	95	92,4	94,5	93,5	96	91,1	91
	100	93,2	93,7	90,6	91,9	88,2	88,7	92,0	91,5
4	30	95,7	95,7	90,3	94,2	90,5	94,7	93,7	93,2
	100	94,7	94,1	87,4	90,2	80,0	83,6	94,3	93,1
5	30	90,5	90,7	97,9	84,4	97,1	91,4	95,1	91,9
	100	89,8	86,6	73,9	53,2	93,2	84,7	95,5	94,5
6	30	87,5	81,2	90,6	51,5	97,8	82,3	95,2	90,8
	100	81,1	76,0	11,3	3,9	73,8	57,9	94,3	93,6
7	30	98,1	97,9	86,5	90,3	91,7	93,7	92,1	91,8
	100	96,2	97,0	64,3	68,1	78,1	81,1	94,0	93,7
8	30	99,2	99	71,4	78,6	87,1	91,5	93,2	92,4
	100	96,6	98,5	32,7	38,7	60,1	67,1	93,6	94,1
9	30	92,3	89,1	98,8	86,5	97,1	92,3	95,8	91
	100	87,9	85,7	73,9	51,3	94,4	86,4	94,6	94,1
10	30	89,2	79,6	94,2	47,9	98,3	81,7	95,4	91
	100	76,4	71,0	9,1	2,9	73,7	58,2	94,4	94,0
11	30	98,4	98,5	82,9	87	91,2	94,1	91,8	91,6
	100	96,4	97,4	59,4	62,7	77,9	81,2	93,9	93,9
12	30	99,3	99	67	74,2	87	91,5	92,6	92
	100	96,8	98,6	27,2	30,7	57,6	64,3	94,0	93,6

Discussió

El coeficient de correlació intraclasse és una mesura àmpliament utilitzada per avaluar la intercanviabilitat entre mètodes de mesura. Habitualment aquest s'estima mitjançant els components de la variància d'un model lineal amb efectes mixtes assumint que tant els efectes aleatoris com el residu es distribueixen sota distribucions normals. Però de vegades l'assumpció de normalitat del residu no és possible per la pròpia naturalesa de les dades, com és en el cas de que la variable que s'està mesurant consisteixi en recomptes sense límit

superior. Aquesta situació es dona, per exemple, quan es vol avaluar la concordança entre analitzadors automàtics que proporcionen com a resultat recomptes de cèl·lules. Aleshores la pràctica habitual és o bé assumir que el residual s'aproximarà a una Normal, o bé aplicar transformacions a les dades que accelerin aquesta aproximació. Els models lineals mixtes generalitzats permeten una nova solució, possibilitant que el residu tingui una distribució pròpia d'un recompte com és la distribució de Poisson.

Com s'ha observat en l'estudi de simulació, en aquests casos el model mixt generalitzat funciona millor en termes de consistència i cobriment dels intervals de confiança que els procediments basats en el model lineal mixt clàssic. A més a més, s'ha observat que les transformacions no funcionen gaire bé, fins i tot posant-se de relleu que dona millor resultat treballar amb les dades originals que amb les transformacions. Aquest fet pot ser degut a que les transformacions són útils quan es treballa amb dades amb valors extrem i/o heterocedàstiques. Però la introducció d'un efecte individu pot explicar en gran part la presencia de valors extrems. Si, a més a més, es permet que el residual pugui ser heterocedastic, com en els GLMM, queda clar que aquestes transformacions resulten innecessàries i fins i tot desaconsellables donat que, com s'ha vist a la simulació, les estimacions que en resulten són força esbiaixades. Des d'aquesta perspectiva, seria preferible l'ús d'un model lineal mixt clàssic amb les dades originals que transformades. No obstant, el model mixt clàssic amb les dades originals s'ha presentat com poc eficient i amb els errors estàndard mal estimats, qüestió que ha provocat uns cobriments pobres dels intervals de confiança.

Pel que fa al mètode d'estimació, la tècnica *penalized quasi-likelihood* ha donat estimacions correctes de les components de la variança i del coeficient de correlació intraclasse, tot i no ser una tècnica completament "màxim-versemblant". Recentment s'està treballant en el desenvolupament de funcions que estimin aquests model per màxima-versemblança aproximant l'integral involucrada en la versemblança mitjançant la quadratura Gauss-Hermite (McCulloch and Searle, 2001) amb un únic efecte aleatori, com seria el cas del coeficient de correlació intraclasse presentat aquí. Tot i que l'estimació PQL ha estat raonablement correcta, desconeixem si utilitzant un procediment d'estimació basat completament en la versemblança s'obtindran estimacions més consistents.

Referencies

Breslow, NE and Clayton DG (1993). "Approximate inference in generalized linear mixed models". *Journal of tje American Statistical Association*, **88**:9-25.

Breslow, NE and Lin, X. (1995). "Bias correction in generalized linear mixed models with a single component of dispersion". *Biometrika,* **82**:81-91.

Carrasco, JL and Jover, L. (2003). "Estimating the generalized concordance correlation coefficient through variance components". *Biometrics*. In press.

Cunningham, WE, Rana, HM, Shapiro, MF and Hays, RD (1997). "Reliability and validity of self-report CD4 counts in persons hospitalized with HIV disease". *Journal of Clinical Epidemiology*, **50**(7):829-835.

King, TS and Chinchilli, VM. (2001). "Robust estimators of the concordance correlation coefficient". *Journal of the Biopharmaceutical Statistics*, **11**(3):83-105.

Lin, X and Breslow, NE (1996). "Bias correction in generalized linear mixed models with multiple components of dispersion". *Journal of the American Statistical Association*, **91**:1007-1016.

McCullagh, P and Nelder, JA (1989). *Generalized Linear Models, 2nd Ed.* Chapman & Hall, London.

Padmanabhan AR, Chinchilli VM, Babu GJ.(1997) "Robust analysis of within-unit variances in repeated measurement experiments" *Biometrics* **53**: 1520-1526.

Robert, CP and Casella G. (1999). *Monte Carlo Statistical Methods*. Springer-Velag, New York.

McCulloch, CE. (1997). "Maximum likelihood algorithms for generalized linear mixed models". *Journal of the American Statistical Association*, **92**:162-170.

McCulloch, CE and Searle, SR. (2001). *Generalized, Linear and Mixed Moldels*. John Wiley & Sons, New York.

Rousson V, Gasser T, Seifert B. (2002) "Assessing intrarater, interrater and test-retest reliability of continous measurements". *Statistics in Medicine* **21**:3431-3446

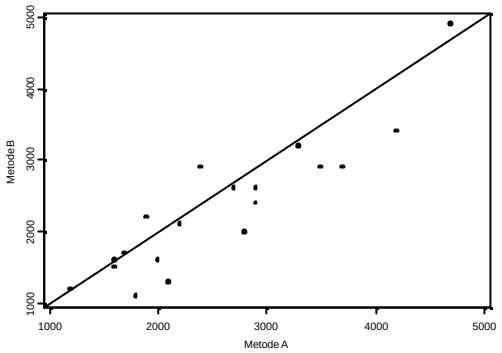
Searle, R.S., Casella, G. and McCulloch, C.E. (1992). *Variance Components.* New York: Wiley.

Venables, W. N. and Ripley, B. D. (1999). *Modern Applied Statistics with S-PLUS* (3rd Edition). New York: Springer-Verlag.

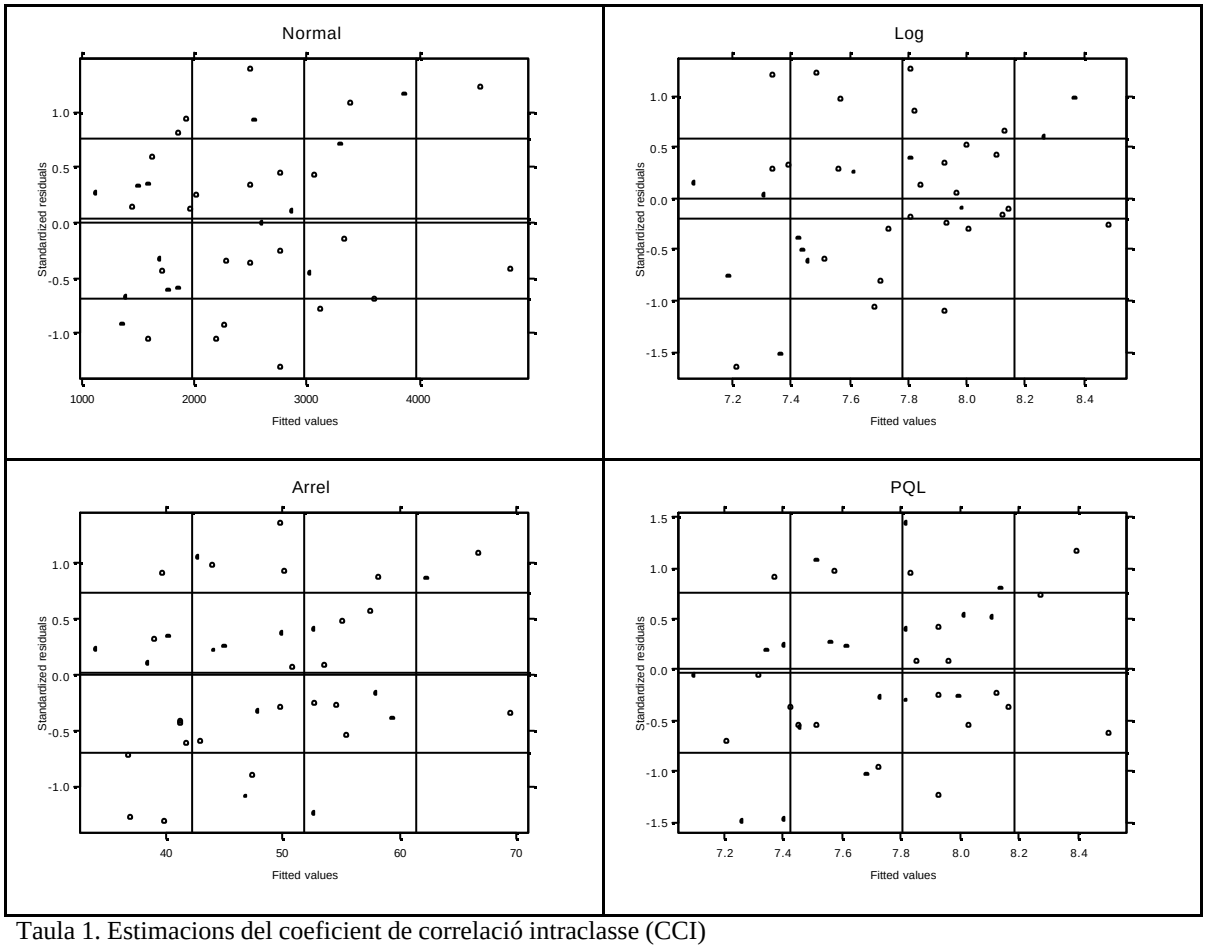
Apèndix I

A vs B

Figura 1a. Gràfic de dispersió



Figures 1b, 1c, 1d i 1e. Gràfics de residus



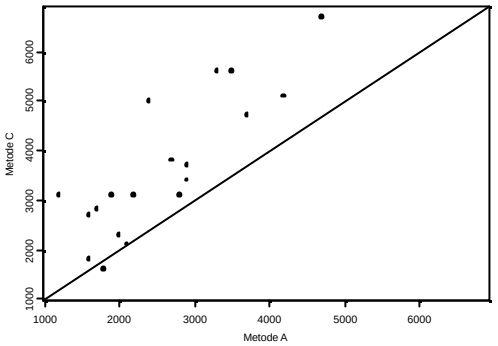
Taula 1. Estimacions del coeficient de correlació intraclasse (CCI)

i errors estàndard (ES)

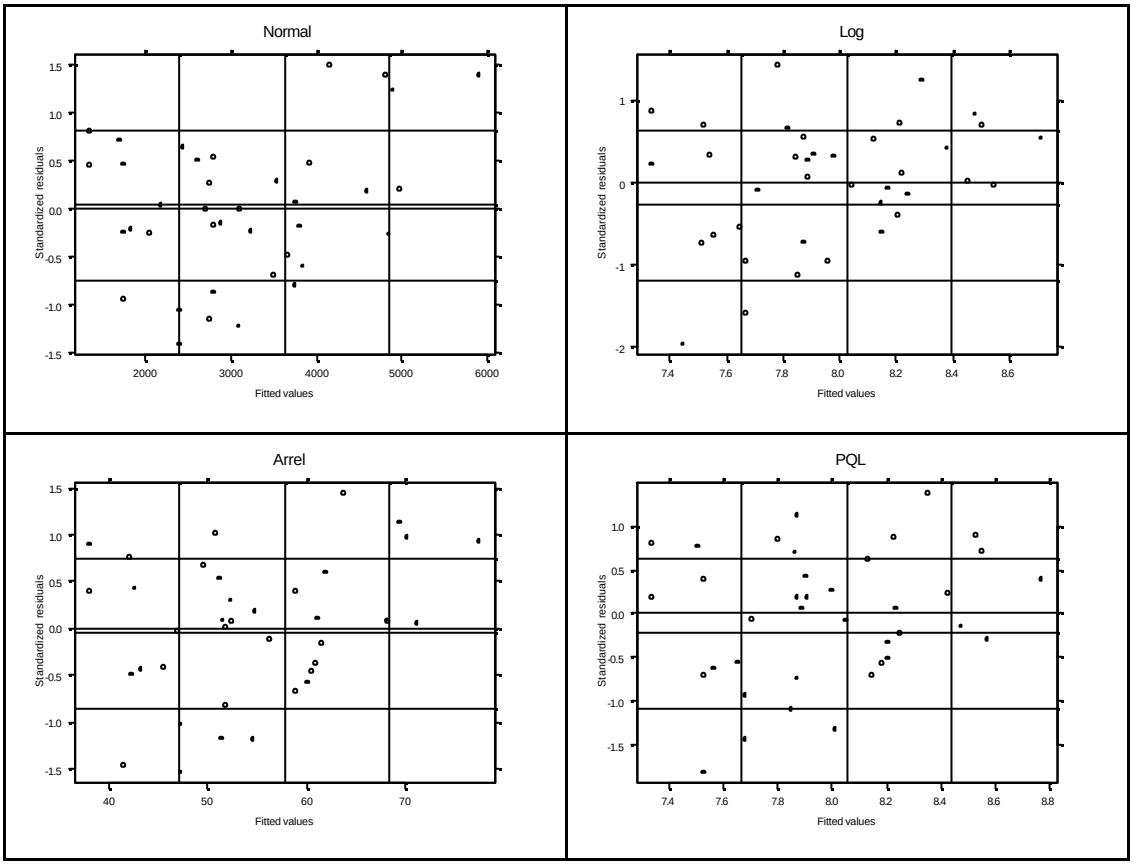
	Normal	Log	Arrel	PQL
CCI	0.8769	0.8452	0.8647	0.9468
ES	0.002687	0.004071	0.003179	0.001358

A vs C

Figura 2a. Gràfic de dispersió



Figures 2b, 2c, 2d i 2e. Gràfics de residus

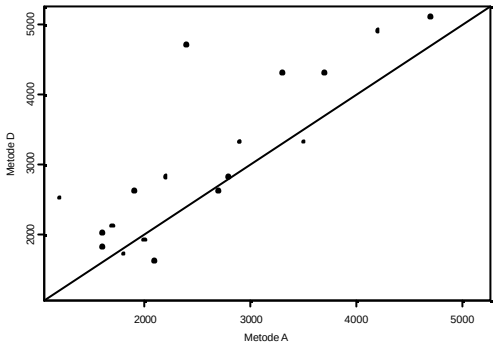


Taula 2. Estimacions del coeficient de correlació intraclasse (CCI)
i errors estàndard (ES)

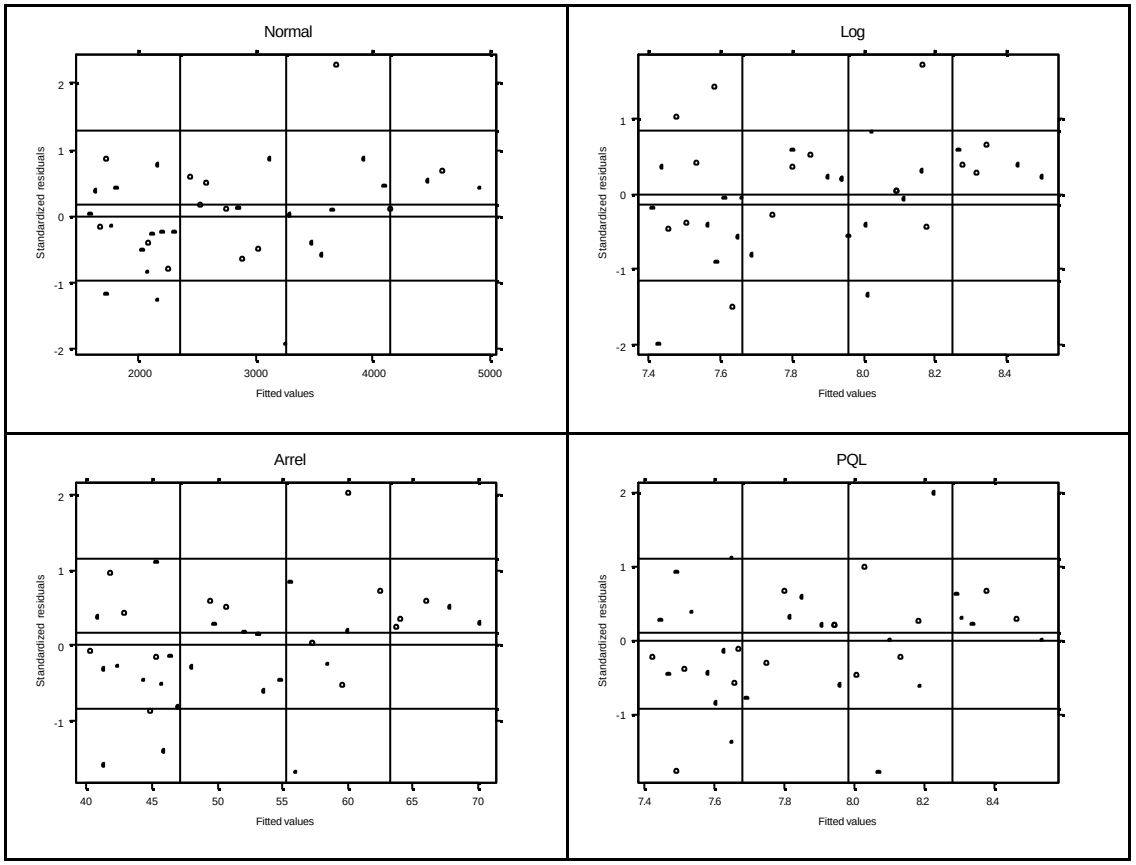
	Normal	Log	Arrel	PQL
CCI	0.5706	0.5672	0.5793	0.6326
ES	0.013335	0.013660	0.012815	0.011113

A vs D

Figura 3a. Gràfic de dispersió



Figures 3b, 3c, 3d i 3e. Gràfics de residus

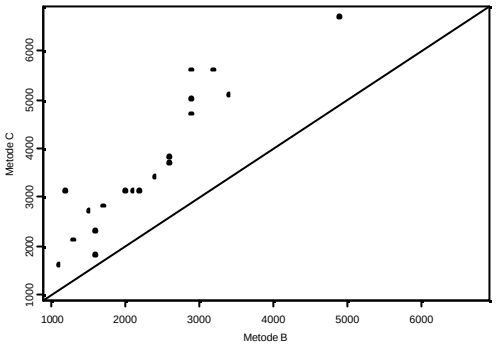


Taula 3. Estimacions del coeficient de correlació intraclasse (CCI)
i errors estàndard (ES)

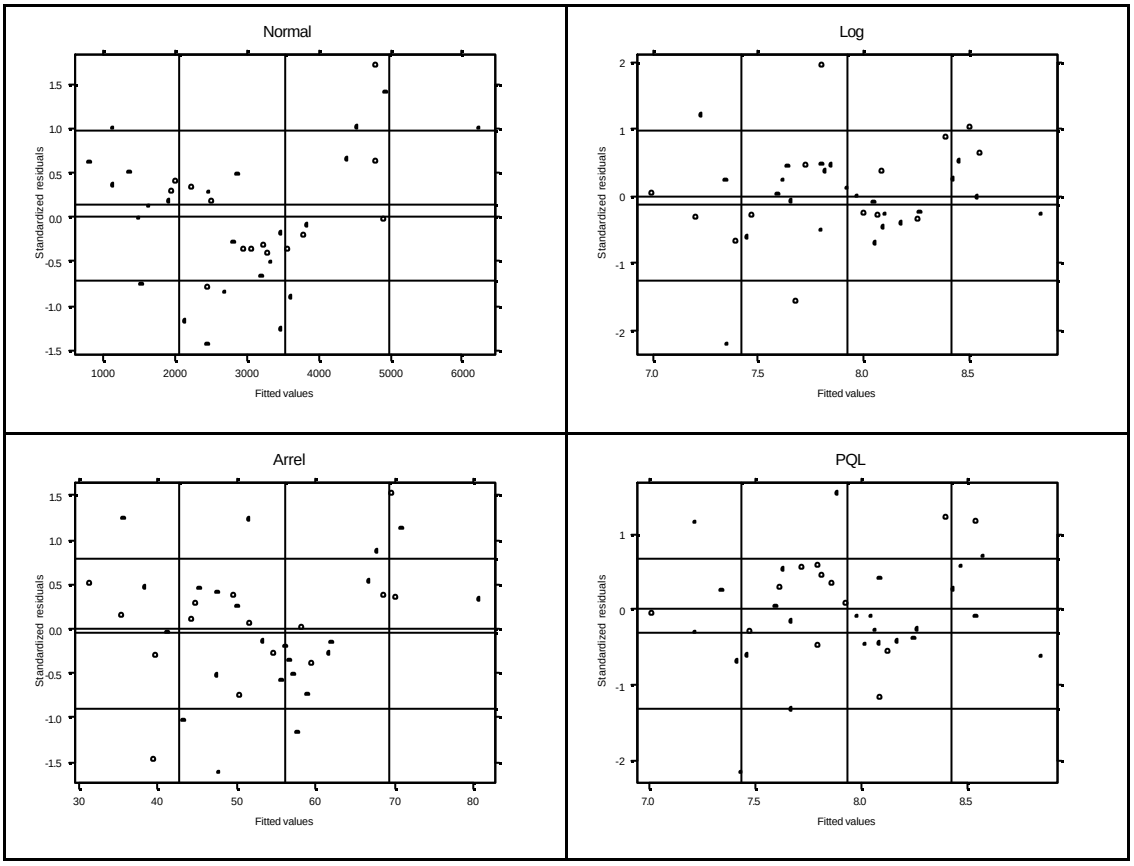
	Normal	Logaritme	Arrel	PQL
CCI	0.7601	0.7331	0.7539	0.8844
ES	0.008381	0.010184	0.008791	0.005032

B vs C

Figura 4a. Gràfic de dispersió



Figures 4b, 4c, 4d i 4e. Gràfics de residus

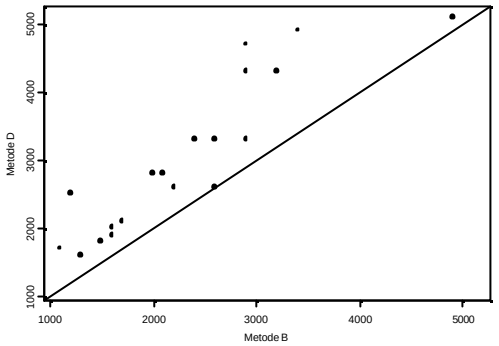


Taula 4. Estimacions del coeficient de correlació intraclasse (CCI)
i errors estàndard (ES)

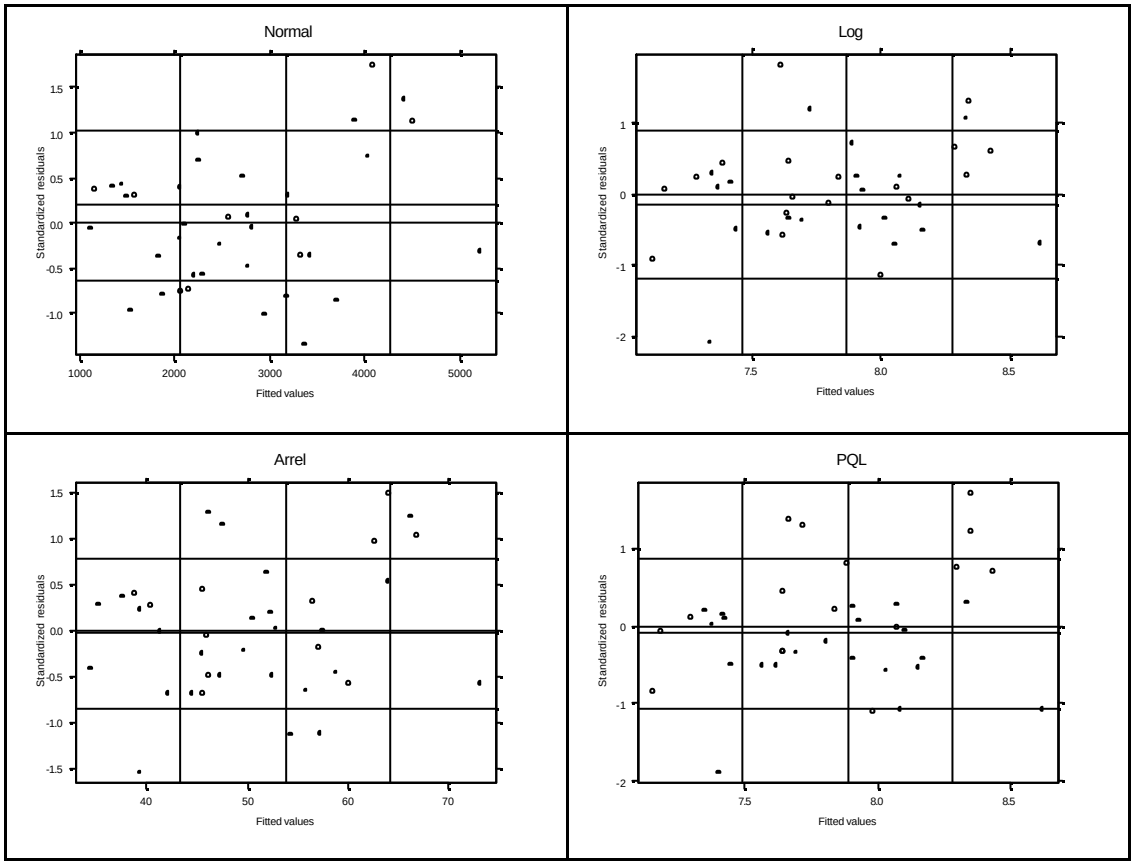
	Normal	Logaritme	Arrel	PQL
CCI	0.5342	0.5532	0.5517	0.5405
ES	0.010747	0.009100	0.009323	0.007718

B vs D

Figura 5a. Gràfic de dispersió



Figures 5b, 5c, 5d i 5e. Gràfics de residus

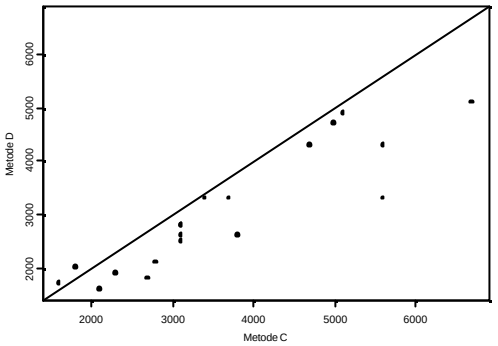


Taula 5. Estimacions del coeficient de correlació intraclasse (CCI)
i errors estàndard (ES)

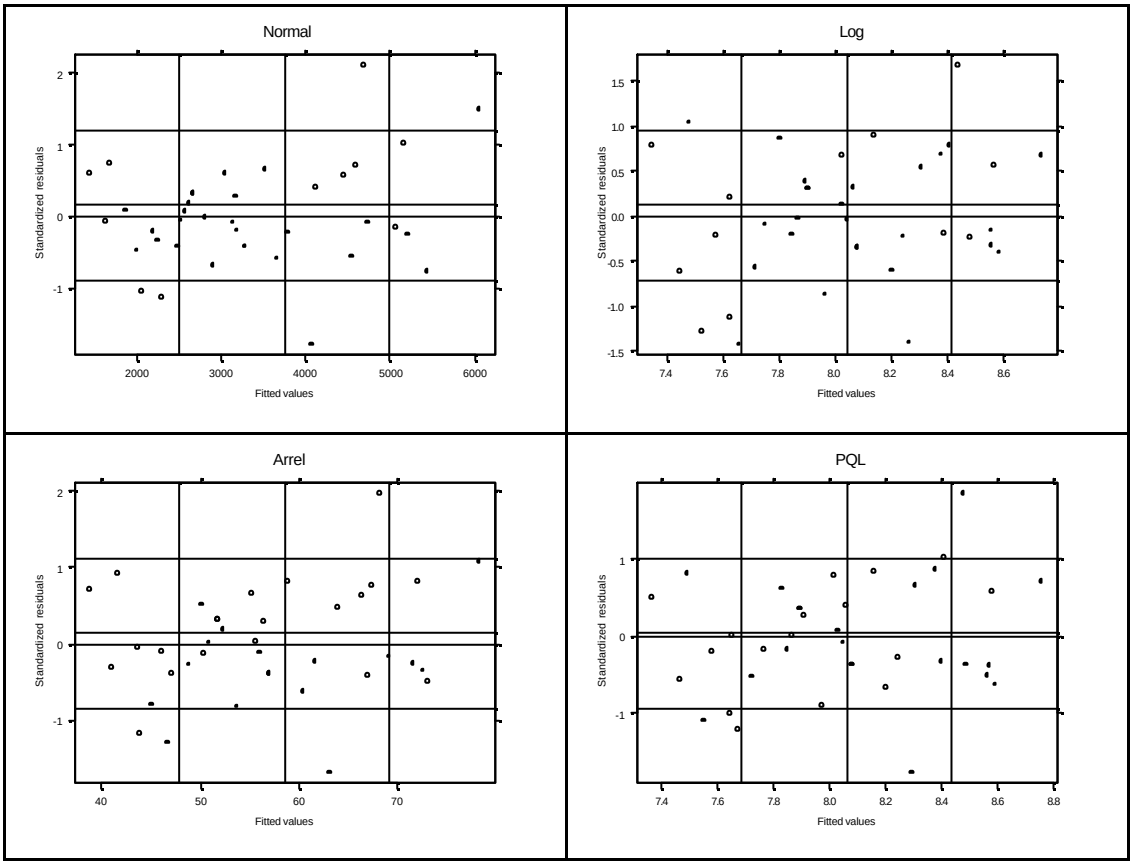
	Normal	Logaritme	Arrel	PQL
CCI	0.7217	0.7241	0.7305	0.7623
ES	0.007693	0.007049	0.006886	0.005862

C vs D

Figura 6a. Gràfic de dispersió



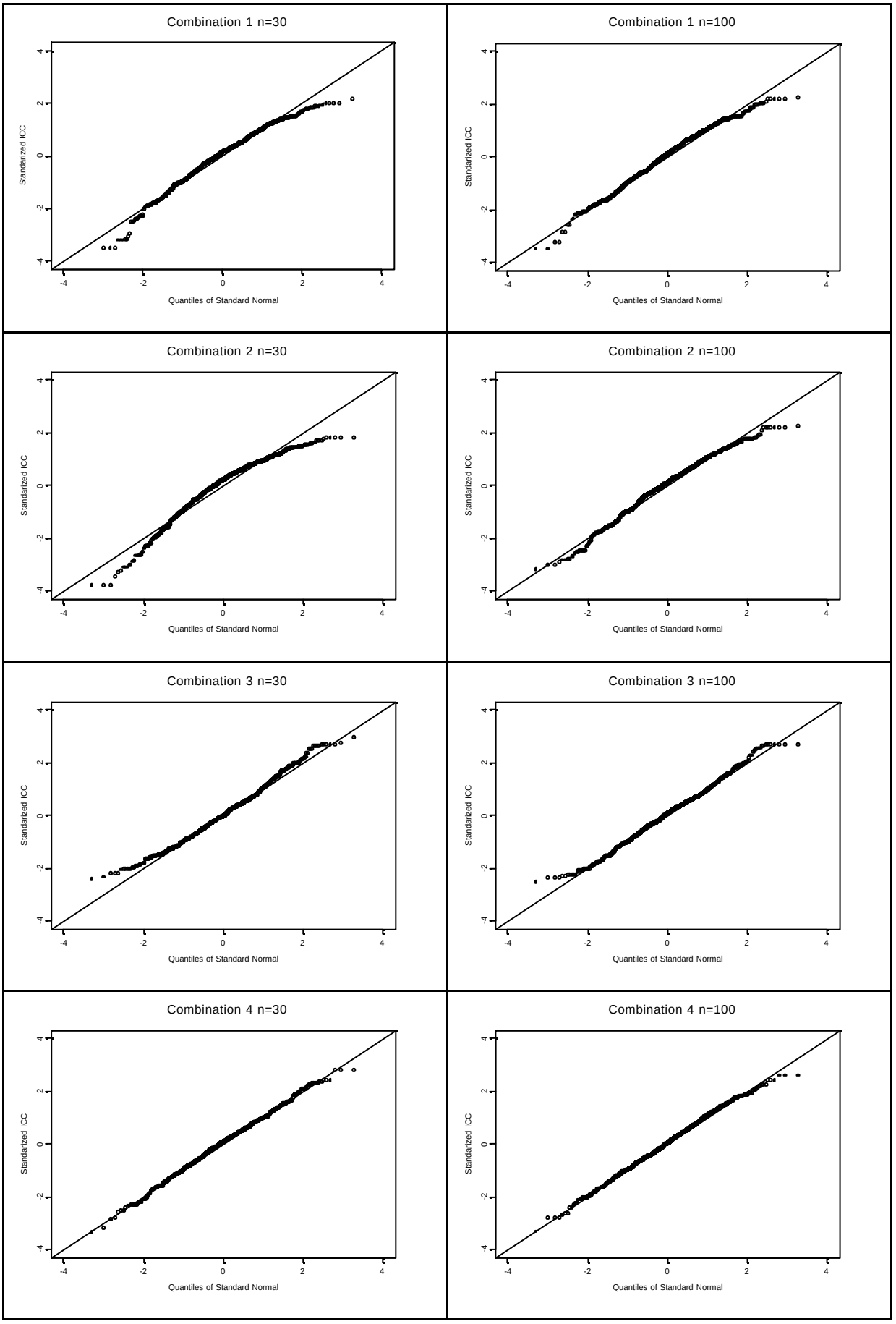
Figures 6b, 6c, 6d i 6e. Gràfics de residus

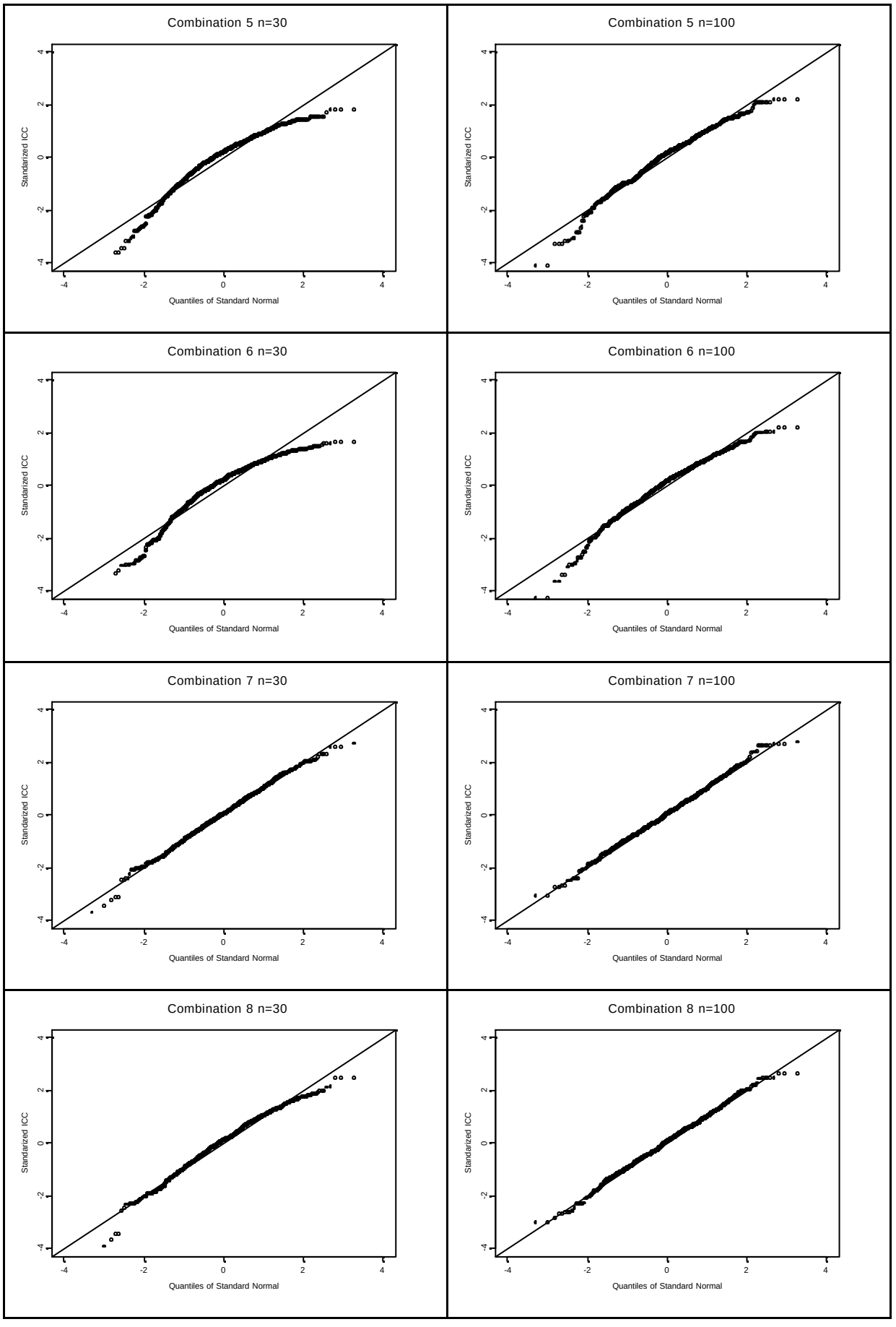


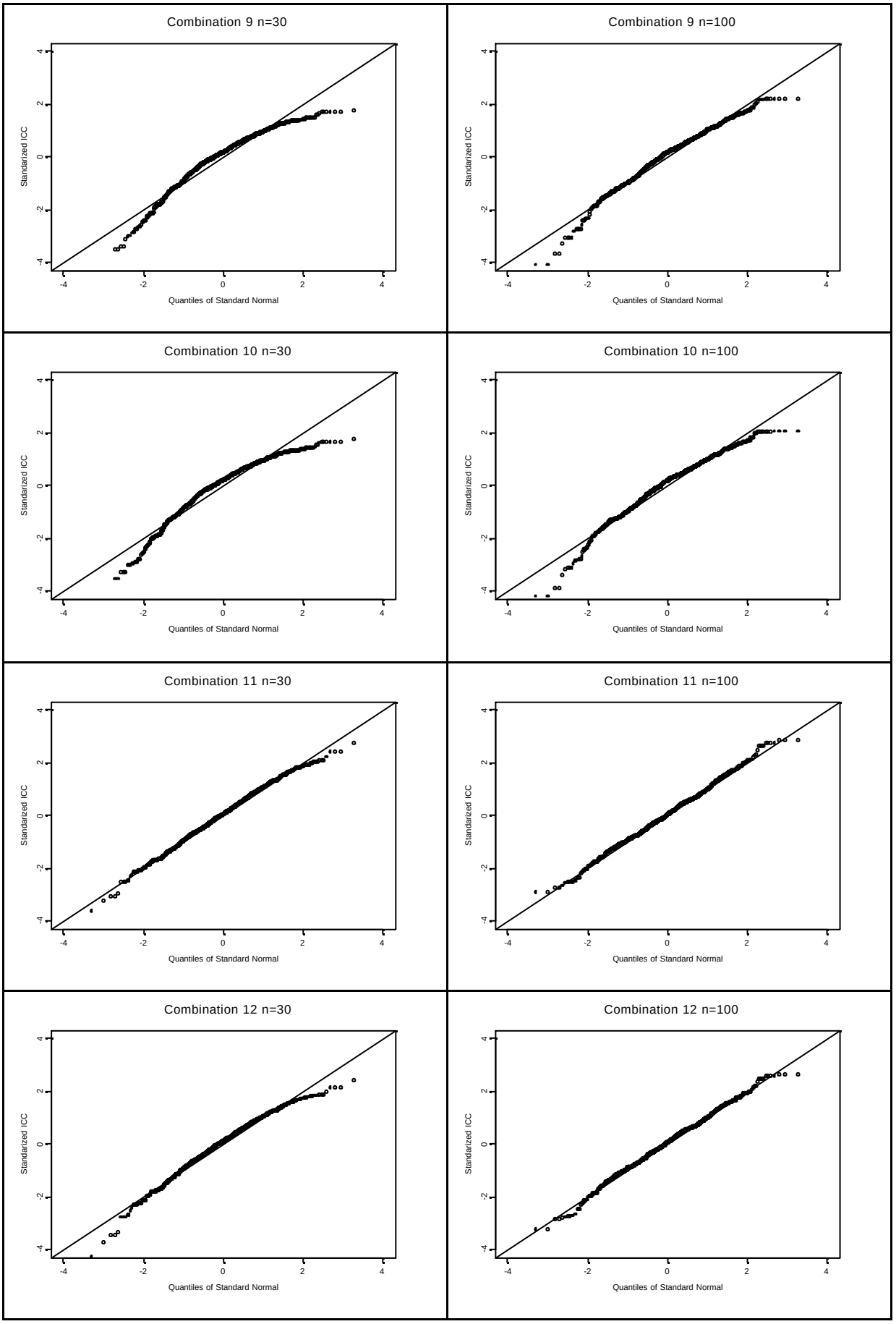
Taula 6. Estimacions del coeficient de correlació intraclasse (CCI)
i errors estàndard (ES)

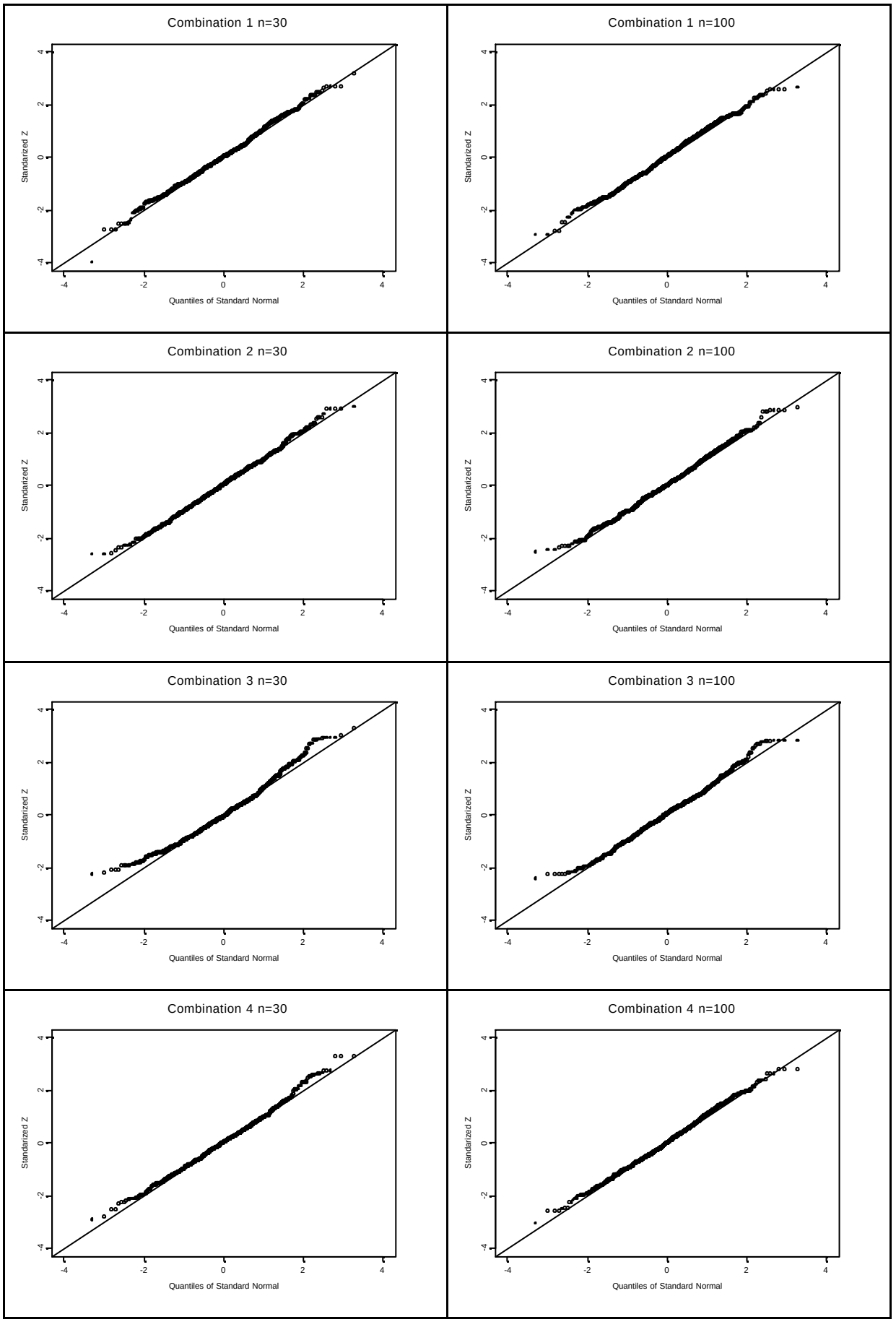
	Normal	Logaritme	Arrel	PQL
CCI	0.8006	0.8298	0.8205	0.8738
ES	0.005470	0.004052	0.004454	0.002951

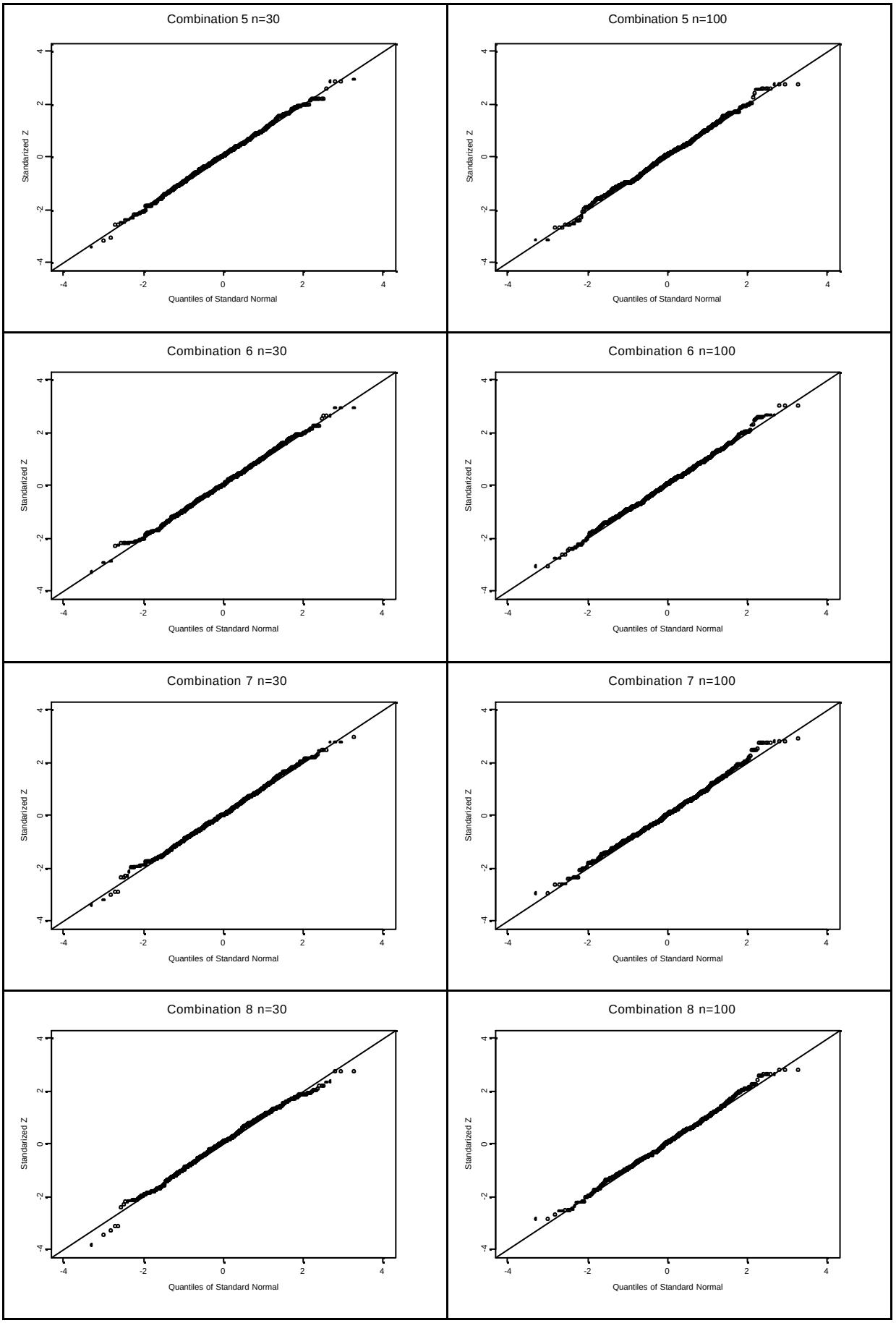
Apèndix II

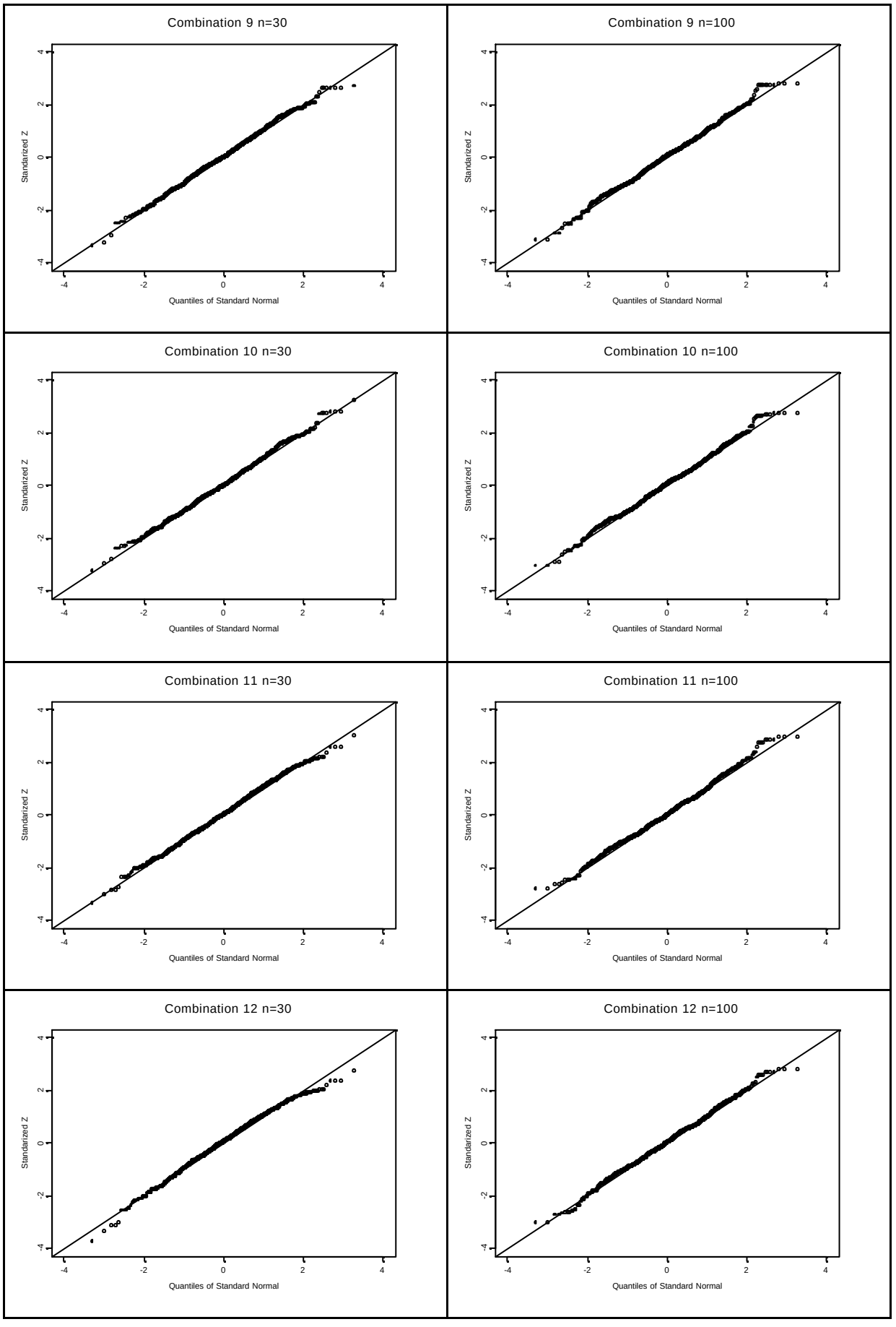

Combination 1 n=30
Combination 1 n=100
Combination 2 n=30
Combination 2 n=100
Combination 3 n=30
Combination 3 n=100
Combination 4 n=30
Combination 4 n=100
Standarized ICC
Quantiles of Standard Normal
-4
-2
0
2
4


Combination 5 n=30
Combination 5 n=100
Combination 6 n=30
Combination 6 n=100
Combination 7 n=30
Combination 7 n=100
Combination 8 n=30
Combination 8 n=100
Standarized ICC
Quantiles of Standard Normal
-4
-2
0
2
4


Combination 9 n=30
Combination 9 n=100
Combination 10 n=30
Combination 10 n=100
Combination 11 n=30
Combination 11 n=100
Combination 12 n=30
Combination 12 n=100
Standarized ICC
Quantiles of Standard Normal
-4
-2
0
2
4


Combination 1 n=30
Combination 1 n=100
Combination 2 n=30
Combination 2 n=100
Combination 3 n=30
Combination 3 n=100
Combination 4 n=30
Combination 4 n=100
Standarized Z
Quantiles of Standard Normal
-4
-2
0
2
4


Combination 5 n=30
Combination 5 n=100
Combination 6 n=30
Combination 6 n=100
Combination 7 n=30
Combination 7 n=100
Combination 8 n=30
Combination 8 n=100
Standarized Z
Quantiles of Standard Normal
-4
-2
0
2
4


Combination 9 n=30
Combination 9 n=100
Combination 10 n=30
Combination 10 n=100
Combination 11 n=30
Combination 11 n=100
Combination 12 n=30
Combination 12 n=100
Standarized Z
Quantiles of Standard Normal
-4
-2
0
2
4

CAPÍTOL 3

EL MODEL D'EQUACIÓ ESTRUCTURAL APLICAT A BIOEQUIVALÈNCIA

Introducció

En l'àmbit de la indústria farmacèutica, quan hom desitja introduir un nou producte terapèutic en el mercat s'ha de demostrar que té l'efectivitat desitjada i els nivells de tolerància indicats per les autoritats competents. Això implica la realització d'un assaig clínic que pot ser molt costós tant en termes econòmics com en temps de realització.

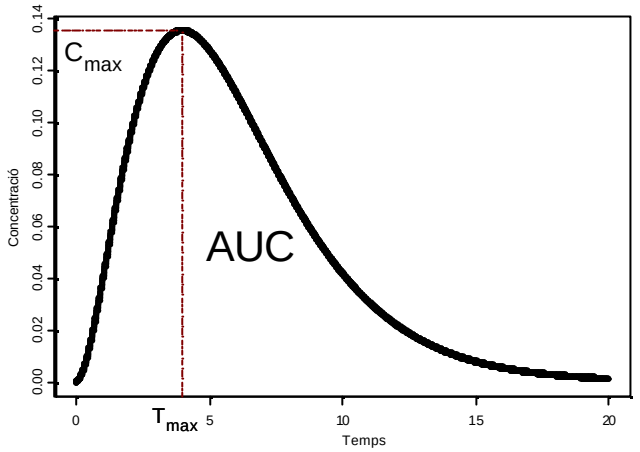
Es podria donar el cas de que el nou producte sigui una nova formulació d'un producte (principi actiu) ja existent en el mercat. Aquest fet es pot presentar en dues formes: com a equivalència farmacèutica o com a alternativa farmacèutica (EMEA, 2000). El nou producte és farmacèuticament equivalent si conté la mateixa quantitat de la mateixa substància activa en la mateixa forma de dosificació que es troba en el producte de referència, per exemple dos productes de paracetamol presentats en càpsules de 500 mg. En canvi, el producte serà una alternativa farmacèutica si estant composat pel mateix principi actiu difereix en la forma química o en la forma de dosificació. Continuant amb l'exemple del paracetamol, una alternativa farmacèutica a la càpsula de 500 mg seria una presentació efervescent del paracetamol en una quantitat de 500 mg.

El fet de que existeixi un producte de referència pel qual l'eficàcia i seguretat ja han estat demostrades pot facilitar la introducció del nou producte, ja sigui equivalència o alternativa farmacèutica. Això es deu a que hom considera que el nou producte és equivalent en seguretat i eficàcia al producte de referència si la seva biodisponibilitat és la mateixa, essent la biodisponibilitat la velocitat i extensió amb la que la substància o principi actiu és absorbit i resulta disponible en el lloc d'acció. El procediment per a demostrar la igualtat de biodisponibilitats entre els dos productes és conegut com a assaig de bioequivalència, en el que la biodisponibilitat dels dos productes es mesurada a una sèrie de voluntaris "sans", habitualment sota un disseny creuat. Per tant l'objectiu de l'assaig de bioequivalència és demostrar igualtat de biodisponibilitat per poder demostrar d'una forma relativament ràpida que el nou producte és efectiu i segur, o almenys tant efectiu i segur com el producte de referència.

La biodisponibilitat es mesura utilitzant una corba farmacocinètica (Figura 1), en la qual es representa en el eix d'abscisses el temps transcorregut i en l'eix d'ordenades la concentració en

sang del fàrmac. La biodisponibilitat s'expressa com una mesura resum d'aquesta corba, essent les mesures més utilitzades l'àrea sota la corba (AUC), la concentració màxima (C_{max}) i el moment en que s'arriba a la concentració màxima (T_{max}).

Figura 1. Corba farmacocinètica.



Suposem que a una mostra de n individus se'ls ha mesurat la biodisponibilitat de cada producte k vegades. El model de mesura que s'assumeix pel logaritme de les biodisponibilitats és el següent (Schall and Luus, 1993)

$$\begin{aligned} T_{ij} &= \mu_T + u_{Ti} + e_{Tij} \\ R_{ij} &= \mu_R + u_{Ri} + e_{Rij} \end{aligned}, \; i = 1,...,n, j = 1,...,k$$

on R i T representen els productes de referència i a testar respectivament, μ_T i μ_R són les mitjanes globals de log-biodisponibilitats de cada producte, u_{Ti} i u_{Ri} són les desviacions en mitjana respecte les mitjanes globals corresponents a l'individu *i*-èssim, és a dir, l'efecte individu. Finalment e_{Tij}, e_{Rij} són les desviacions de la mesura *j*-èssima respecte les mitjanes de l'individu *i*-èssim, això és, les variacions intra-individu.

S'assumeix que tant els efectes individu com les desviacions intra-individu és distribueixen sota distribucions normals. Així, $u_{Ti} \sim N(0, \sigma_{BT})$, $u_{Ri} \sim N(0, \sigma_{BR})$, $e_{Tij} \sim N(0, \sigma_{WT})$, $e_{Rij} \sim N(0, \sigma_{WR})$.

També s'assumeix que les úniques components del model que covarien són els efectes individu, $\text{cov}(u_{Ri}, u_{Ti}) = \sigma_{RT}$.

S'han definit tres tipus de bioequivalència (Anderson and Hauck, 1990): bioequivalència en mitjana, bioequivalència poblacional i bioequivalència individual. La bioequivalència en mitjana és el tipus més utilitzat i que actualment és exigit en la majoria d'agències farmacèutiques. Aquesta es dona quan existeix igualtat de mitjanes globals, $\mu_T = \mu_R$. Per tant, si existeix bioequivalència en mitjana, els dos productes tindran en mitjana la mateixa biodisponibilitat a la població d'estudi.

La bioequivalència poblacional requereix igualtat de mitjanes globals i igualtat de les variàncies totals de cada mètode, $\sigma_R^2 = \sigma_T^2$, on $\sigma_R^2 = \sigma_{BR}^2 + \sigma_{WR}^2$ i $\sigma_T^2 = \sigma_{BT}^2 + \sigma_{TR}^2$. La igualtat de mitjanes i variàncies junt amb l'assumpció de normalitat implica que les distribucions de densitat de probabilitat marginals de les log-biodisponibilitats seran iguals. Per tant, la bioequivalència poblacional garanteix que les biodisponibilitats dels dos productes es distribueixen igual en la població d'estudi. Aquest tipus de bioequivalència es troba relacionat amb el concepte de "prescribilitat" (*prescribability*), és a dir, quan el clínic ha decidir entre els dos productes per iniciar un tractament. En el cas de que siguin poblacionalment bioequivalents al metge li serà indiferent prescriure un o altre, perquè a priori els dos productes tenen la mateixa distribució de probabilitat sobre la quantitat de biodisponibilitat que serà aconseguida en els individus de la població de pacients.

Finalment, la bioequivalència individual requereix igualtat de log-biodisponibilitats per a qualsevol individu. Això implica igualtat de mitjanes globals, igualtat de mitjanes individuals, $u_{Ri} = u_{Ti}$, i que la variabilitat de les desviacions intra-individu siguin iguals, $\sigma_{WR}^2 = \sigma_{WT}^2$. Sota l'assumpció de normalitat dels efectes, la bioequivalència individual implica igualtat de les distribucions de densitat de probabilitat condicionades als individus de les log-biodisponibilitats. Suposem que un individu concret ha iniciat un tractament amb el producte de referència i en un moment donat el clínic vol canviar el tractament pel producte a testar. Si els dos productes són individualment bioequivalents es pot assumir que la quantitat de principi actiu que serà biodisponible per aquell individu en concret serà la mateixa independentment del producte que s'utilitzi. Per aquesta raó la bioequivalència individual es relaciona amb el concepte de intercanviabilitat (*switchability*) entre els dos tractaments, es a dir, en qualsevol moment del tractament es pot utilitzar un o altre producte indistintament perquè a priori els dos productes tenen la mateixa distribució de probabilitat, condicionada a l'individu, sobre la quantitat de biodisponibilitat que serà aconseguida.

Els tres tipus de bioequivalència tenen una característica comú: és necessari demostrar la igualtat entre productes. En realitat demostrar igualtat és una prova determinista: només cal esperar fins trobar una diferència i la igualtat serà rebutjada. Per això és més interessant i útil parlar d'equivalència, són els paràmetres prou semblants o les seves distribucions de probabilitats prou similars per considerar-los equivalents? La resposta a aquesta pregunta passa per definir uns límits a partir dels quals es considerarà que la diferència és massa gran com per assumir equivalència.

A més a més, el contrast d'hipòtesi clàssic resulta inadequat per demostrar equivalència (Westlake, 1972). Això es degut a que si s'utilitza la hipòtesi nul·la d'igualtat estricta, H_0: $\mu_R=\mu_T$, i es controla l'error de tipus I associat, el que en realitat s'estarà controlant és la probabilitat de declarar erròniament inequivalència, quan el més apropiat és controlar l'error al declarar equivalència. Seria possible realitzar-ho controlant l'error de tipus II, però en lloc d'equivalència s'estaria intentant demostrar igualtat. Per tant, és necessari buscar una metodologia diferent que permeti avaluar l'equivalència.

El procediment més acceptat per testar hipòtesis genèriques d'equivalència és el *two-one sided test approach* (Schuirmann, 1987) en el que el problema és formulat mitjançant dues hipòtesis. Suposem que es declararà que les mitjanes són equivalents si la diferència en valor absolut entre elles és menor que un cert valor δ. La primera hipòtesi alternativa a testar és que la diferència entre les mitjanes sigui menor que δ, mentre que a la segona hipòtesi alternativa és que la diferència sigui superior a $-\delta$. Si ambdues hipòtesis nul·les són rebutjades amb una probabilitat d'error de tipus I fixada a α, es declararà equivalència amb una probabilitat d'error igual a α. Aquest procediment és idèntic a construir un interval de confiança amb una confiança del $(1-2\alpha)$% i comprovar si l'interval cau completament dintre de l'interval d'equivalència $(-\delta,\delta)$.

El procediment *two one-sided test* s'ha aplicat principalment en l'assaig de bioequivalència en mitjana degut a que es tracta del procediment recomanat per les agències europees i americanes. No obstant s'han proposat altres mètodes per avaluar la bioequivalència en mitjana, alguns basats també en la construcció d'intervals de confiança de la diferència de mitjanes (Westlake, 1976; Kirkwood, 1981) i d'altres en procediments més sofisticats com el proposat per Lindley (1998) que utilitza una funció de pèrdua. Cal destacar el mètode anomenat regla del 75/75, on s'exigeix que el quocient entre les mesures de biodisponibilitats dels productes de referència i a testar ha d'estar entre 0.75 i 1.25, i que això s'ha de complir en almenys el 75% dels individus. Aquesta

regla no s'ha utilitzat gaire perquè va ser criticada pel pobre comportament estadístic que donava, tot i que per una banda el criteri del quocient es va mantenir com a límits de bioequivalència per la bioequivalència en mitjana, i per altre el criteri de que la regla es compleixi en un cert percentatge de la població ha tornat a ser considerat pel cas de la bioequivalència individual.

Els altres dos tipus de bioequivalència, poblacional i individual, s'han qualificat con més restrictives que la bioequivalència en mitjana perquè es veuen més paràmetres implicats en la demostració d'equivalència. Per tant, sota aquesta perspectiva el tipus de bioequivalència més restrictiu és la individual. El fet de què s'hagin d'avaluar diferents paràmetres a banda de les mitjanes globals ha fet que els procediments proposats s'hagin classificat en agregats i desagregats (Chen, 1997), on un procediment agregat avalua la bioequivalència combinant tots els paràmetres implicats en un únic índex. Pel contrari, un mètode desagregat avalua per separat cadascun dels paràmetres involucrats en la bioequivalència. Actualment el procediment proposat per la *Food and Drug Administration* tan per bioequivalència poblacional com individual és agregat (FDA, 2001), donat que combina les mitjanes i les variàncies totals per la bioequivalència poblacional, i per la bioequivalència individual utilitza alhora les mitjanes globals, les variàncies intra-individu i la variància de la diferència entre les mitjanes individuals anomenada variància de la interacció individu-formulació. No obstant, en els darrers anys diversos mètodes de diferent naturalesa han estat proposats (Holder and Hsuan, 1993; Esinhart and Chinchilli, 1994; Vuorinen and Turunen, 1996; Gould, 2000; Lin, 2000) posant de manifest que la bioequivalència encara és un tema candent origen de força discussió.

En aquest capítol de la memòria ens centrarem en la demostració de bioequivalència individual. Així el primer article mostra el procediment actualment proposat per la FDA (2001) i es presenta el model d'equació estructural com una alternativa vàlida per a la avaluació de bioequivalencia individual. El model d'equació estructural assumeix que la relació entre les mitjanes individuals de cada producte és la mateixa per a tots els individus, per relaxar aquesta assumpció una extensió d'aquest model, el model d'equació estructural *error-in-equation*, es presentat en el segon article.

Assessing individual bioequivalence using the structural equation model

Josep-Lluís Carrasco and Lluís Jover

Bioestadística, Departament de Salut Pública, Universitat de Barcelona, Barcelona, Spain

SUMMARY

The structural equation model (SEM) is introduced as a useful approach for assessing individual bioequivalence. SEM parameters are estimated using a partial likelihood analysis and the hypothesis of individual bioequivalence is evaluated in a disaggregate way, testing separately the hypothesis concerning SEM parameters, and assessing the overall hypothesis of individual bioequivalence using the intersection-union principle. Limits of bioequivalence for SEM parameters are proposed and a power analysis is carried out.

KEYWORDS: Individual bioequivalence, structural equation model, intersection-union principle, partial likelihood analysis, limits of bioequivalence

1. INTRODUCTION

The aim of bioequivalence trials is to show that two formulations have similar bioavailabilities. Originally, bioequivalence assays implied equality of average bioavailabilities, but Anderson and Hauck [1] demonstrated that this equality was insufficient to guarantee switchability between formulations, and so they defined the concept of individual bioequivalence. The FDA has now incorporated an aggregate index in its guidelines [2], based on the procedures of Schall and Luus [3] and Hyslop *et al.* [4]. This index simultaneously measures departures from three issues: equality of means, equality of within-subject variances and absence of subject-by-formulation interaction variance. Since the concept of "similar bioavailabilities" actually means agreement between the bioavailabilities of two formulations, the procedures used in agreement problems seem adequate in individual bioequivalence assays. We will introduce the structural equation model (SEM) as an approach used in reliability and method comparison assays [5], and as a useful disaggregate approach for testing individual bioequivalence [6, 7]. Section 2 contains the measurement model for bioavailabilities and a brief description of the current FDA criterion for assessing individual bioequivalence. Section 3 illustrates the SEM approach, including parameter estimation, hypotheses concerning individual bioequivalence and the bioequivalent limits used to test these hypotheses. A case-example is given in section 4 comparing the SEM approach with

the method currently recommended by the FDA. Finally, section 5 contains the discussion and main conclusions about the characteristics of SEM as a tool for assessing individual bioequivalence

2. THE FDA'S APPROACH

2.1 Measurement model

Analyses of individual bioequivalence are typically based on models of the logarithm of bioavailability measurements. The most common measures of bioavailabilities are derived from a pharmacokinetic curve: the area under the concentration curve (AUC) or the maximum concentration (C_{max}). The measurement model proposed for bioavailabilities (or its log-transformed values) by Schall and Luus [3] is

$$T_{ij} = \mu_T + u_{Ti} + e_{Tij} \quad R_{ij} = \mu_R + u_{Ri} + e_{Rij}$$

where T_{ij} and R_{ij} are the bioavailabilities of tested (T) and reference (R) formulations, μ_T and μ_R are the overall averages of T and R, u_{Ti} and u_{Ri} are the mean deviations of individual *i* and e_{Tij} and e_{Rij} are the deviations of individual *i* on *j* determination, with *i*=1,..,n and *j*=1,...,k. It is assumed that $u_{Ti} \sim N(0, \sigma_{BT})$, $u_{Ri} \sim N(0, \sigma_{BR})$, $e_{Tij} \sim N(0, \sigma_{WT})$, $e_{Rij} \sim N(0, \sigma_{WR})$

The individual bioequivalence is completely achieved (T and R are bio-identical) when $\mu_R = \mu_T$, $\sigma^2_{WR} = \sigma^2_{WT}$ and $\sigma^2_D = 0$, where σ^2_D is the variance of the subject-by-formulation interaction and can be expressed as $\sigma^2_D = \mathrm{Var}(u_{Ti} - u_{Ri}) = \sigma^2_{BT} + \sigma^2_{BR} - 2\sigma_{RT}$.

2.2 Criterion and bioequivalent limits

The FDA's criterion is based on the following index $\theta = \dfrac{(\mu_T - \mu_R)^2 + \sigma^2_D + (\sigma^2_{WT} - \sigma^2_{WR})}{\max(\sigma^2_{WR}, \sigma^2_{W0})} \le \theta_I$ [2], where σ^2_{W0} is a constant with a suggested value of 0.04, and θ_I is the bioequivalent limit with a recommended value of $\theta_I = \dfrac{(\ln 1.25)^2 + 0.05}{0.04} = 2.4948 \approx 2.5$, being $(\ln 1.25)^2$ the limit for the difference of average, 0.05 is the limit obtained from the addition of within-subject variances difference (0.02) and the subject-by-formulation interaction variance (0.03) limits, and 0.04 comes from σ^2_{W0}. According to the value used in the denominator, σ^2_{WR} or σ^2_{WO}, the index θ is called either "reference scaled" or "constant scaled", respectively.

This index is considered to be an aggregate measure because it evaluates averages difference, within-subject variances difference and the subject-by-formulation interaction variance at the same time. The bioequivalence is accepted at significance level α if the $(1-\alpha)\%$ upper confidence limit of θ is lower than θ_I. Hyslop *et al.* [4] have recently proposed a linearized version of the criterion, where the index becomes $\eta = (\mu_T - \mu_R)^2 + \sigma_D^2 + (\sigma_{WT}^2 - \sigma_{WR}^2) - \theta_I \cdot \max(\sigma_{WR}^2, \sigma_{W0}^2)$, concluding bioequivalence if the $(1-\alpha)\%$ upper confidence limit of η is lower than 0.

3. STRUCTURAL EQUATION MODEL

3.1 The model

The structural equation model (SEM) uses the same measurement model proposed above, but for the sake of simplicity we are expressing it as $T_{ij} = u_{Ti} + e_{Tij}$ $R_{ij} = u_{Ri} + e_{Rij}$ where it is assumed that $u_{T_i} \sim N(\mu_T, \sigma_{BT})$, $u_{Ri} \sim N(\mu_R, \sigma_{BR})$, $e_{Tij} \sim N(0, \sigma_{WT})$, $e_{Rij} \sim N(0, \sigma_{WR})$ and the only covariance among components of the model that is not equal to zero is $\text{cov}(u_{Ri}, u_{Ti}) = \sigma_{RT}$.

The SEM incorporates a new component in the model, the structural relationship between u_{Ti} and u_{Ri}, defined as $u_{Ti} = \alpha + \beta \cdot u_{Ri}$ [8], therefore we are adding the assumption that the individual averages have a linear relationship. Assuming this model, we are modelling the relationship between means of both formulations and the covariance structure of individual effects, and hence we have

$$\mu_T = \alpha + \beta \cdot \mu_R; \quad \sigma_{BT}^2 = \beta^2 \sigma_{BR}^2; \quad \sigma_{RT} = \beta \cdot \sigma_{BR}^2 \text{ and } \varphi = \mu_T - \mu_R = \alpha + (\beta - 1) \cdot \mu_R$$

and therefore, if α, β, $\sigma_{WR}^2, \sigma_{WT}^2, \sigma_{BR}^2$ and μ_R are known the model is completely specified. We can also rewrite σ_D^2 and express it as

$$\sigma_D^2 = \text{Var}(u_T - u_R) = \sigma_{BT}^2 + \sigma_{BR}^2 - 2 \cdot \sigma_{RT} = \beta^2 \cdot \sigma_{BR}^2 + \sigma_{BR}^2 - 2 \cdot \beta \cdot \sigma_{BR}^2 = (\beta - 1)^2 \cdot \sigma_{BR}^2$$

so now the individual bioequivalence is completely achieved when $\beta = 1$, $\alpha = 0$ and $\lambda = \sigma_{WR}^2 / \sigma_{WT}^2 = 1$. These criteria can be relaxed in the same way as the FDA criterion and then individual bioequivalence is accepted when $\beta \in [\theta_1; \theta_2]$, $\varphi \in [\theta_3; \theta_4]$ and $\lambda < \theta_5$, being $\theta_1, \theta_2, \theta_3, \theta_4$ and θ_5 the bioequivalent limits.

3.2 Parameter estimation

Parameter estimation depends on the design of the data, particularly on the number of determinations by formulation and subject. If the design is non-replicated there is only one measurement by formulation and subject, then the model is not identified. Consequently an extra assumption about parameters is required to estimate the model. For example, if we had a previous assay of reference method reliability we could introduce information about σ^2_{BR} or σ^2_{WR} into the model and then the estimation of the remaining parameters becomes feasible. Another common situation that makes the model identifiable is to assume equality of within-subject variances, as in Dragalin and Fedorov [7].

If we have two or more measures by subject for at least one formulation, the parameter estimation can be carried out through a partial likelihood estimation [9, 10]. Throughout the paper an equal number of determinations (k) by subject and formulation and k greater than one will be assumed. Following this approach we express the log-likelihood function as

$$L\left(\alpha,\beta,\sigma^2_{BR},\sigma^2_{WR},\sigma^2_{WT},R_{ij},T_{ij}\right)=L_{1|2}\left(\alpha,\beta,\sigma^2_{BR}\,|\,\sigma^2_{WR},\sigma^2_{WT},\overline{R}_i,\overline{T}_i\right)+L_2\left(\sigma^2_{WR},\sigma^2_{WT},W^2_R,W^2_T\right)$$

where

$$\overline{R}_i=\frac{1}{k}\sum_{j=1}^{k}R_{ij}=u_{Ri}+\frac{1}{k}\sum_{j=1}^{k}e_{ij} \qquad W^2_R=\sum_{i=1}^{n}\sum_{j=1}^{k}\left(R_{ij}-\overline{R}_i\right)^2$$

$$\overline{T}_i=\frac{1}{k}\sum_{j=1}^{k}T_{ij}=u_{Ti}+\frac{1}{k}\sum_{j=1}^{k}e_{ij}, \qquad W^2_T=\sum_{i=1}^{n}\sum_{j=1}^{k}\left(T_{ij}-\overline{T}_i\right)^2$$

So, the full log-likelihood is equal to the conditional likelihood $L_{1|2}$ based on individual means plus the marginal likelihood L_2 based on within-individual sum of squares. Chinchilli *et al.* [10] suggest using L_2 to estimate within-subject variances, then the maximum likelihood estimates are $\hat{\sigma}^2_{WR}=W^2_R/n\cdot(k-1)$ and $\hat{\sigma}^2_{WT}=W^2_T/n\cdot(k-1)$ and the within-subject variances ratio is estimated as $\hat{\lambda}=\hat{\sigma}^2_{WT}/\hat{\sigma}^2_{WR}$.

The remaining parameters can be estimated by incorporating the within-subject variances estimates in $L_{1|2}$ and then maximizing $L_{1|2}$ [8, 10]. This conditional likelihood can be understood as the likelihood of the non-replicated structural equation model with known measurement error variances [11], and then the maximum likelihood estimates are:

$$\hat{\beta}=\frac{S_T^2-\hat{\lambda}\cdot S_R^2+\sqrt{\left(S_T^2-\hat{\lambda}\cdot S_R^2\right)^2+4\cdot\hat{\lambda}\cdot S_{RT}^2}}{2\cdot S_{RT}};\quad \hat{\alpha}=\overline{X}_T-\hat{\beta}\cdot\overline{X}_R;\quad \hat{\varphi}=\hat{\alpha}+\left(\hat{\beta}-1\right)\cdot\overline{X}_R$$

$$\hat{\sigma}_{BR}^2=\frac{S_T^2+\hat{\lambda}\cdot S_R^2-\frac{2\cdot\hat{\sigma}_{WT}^2}{k}+\sqrt{\left(S_T^2-\hat{\lambda}\cdot S_R^2\right)^2+4\cdot\hat{\lambda}\cdot S_{RT}^2}}{2\cdot\left(\hat{\lambda}+\hat{\beta}^2\right)}$$

where $\overline{X}_R,\overline{X}_T,S_R^2,S_T^2,S_{RT}$ are the sample means, variances and covariance of $\overline{R}_i$ and $\overline{T}_i$, respectively, and n is the number of individuals. These are the maximum likelihood estimates provided one or more of the following conditions is satisfied:

$$S_R^2>\hat{\sigma}_{WR}^2/k,\ S_T^2>\hat{\sigma}_{WT}^2/k \text{ or } S_{RT}>\left(\hat{\sigma}_{WR}^2/k-S_R^2\right)\left(\hat{\sigma}_{WT}^2/k-S_T^2\right).$$

Gleser [12] proved that if $\sigma_{BR}^2>0$ then the estimates $\hat{\alpha}$ and $\hat{\beta}$ are strongly consistent, asymptotically jointly normal with the covariance of the asymptotic distribution of $n^{1/2}\left(\hat{\alpha}-\alpha,\hat{\beta}-\beta\right)$ equal to

$$\Sigma\left(\hat{\alpha},\hat{\beta}\right)=\begin{bmatrix}\theta+\mu_R^2\cdot\psi & -\mu_R\cdot\psi\\ -\mu_R\cdot\psi & \psi\end{bmatrix}$$

where

$$\psi=\sigma_{BR}^{-4}\cdot\left(\theta\left(\sigma_{BR}^2+\frac{\sigma_{WR}^2}{k}\right)-\beta^2\left(\frac{\sigma_{WR}^2}{k}\right)^2\right) \text{ and } \theta=\frac{1}{k}\left(\sigma_{WT}^2+\beta^2\sigma_{WR}^2\right).$$

Thus, for making inference about these parameters we can use a normal distribution, although Fuller [13] suggests a t-distribution with n–2 degrees of freedom in small samples. Since $\hat{\varphi}$ is a linear combination of maximum likelihood estimates, it also follows an asymptotic normal distribution with variance

$$\text{var}(\hat{\varphi})=\text{var}(\hat{\alpha})+\mu_R^2\ \text{var}(\hat{\beta})-2\mu_R\ \text{cov}(\hat{\alpha},\hat{\beta})=\frac{\theta}{n}.$$

Both within-subjects variances follow chi-square distributions with $n\cdot(k-1)$ degrees of freedom [10]; therefore the within-subject variances ratio follows an exact F-distribution with $n\cdot(k-1)$ and $n\cdot(k-1)$ degrees of freedom [10, 14]. Thus we will base inference about λ on F-distribution.

3.3 Hypothesis testing and bioequivalent limits

The hypothesis of individual bioequivalence will be tested in a disaggregate sense evaluating five

hypotheses about φ, β and λ:

$$H_{01}:\beta<\theta_1 \qquad H_{02}:\beta>\theta_2 \qquad H_{03}:\varphi<\theta_3 \qquad H_{04}:\varphi>\theta_4 \qquad H_{05}:\lambda>\theta_5$$
$$H_{11}:\beta\geq\theta_1 \qquad H_{12}:\beta\leq\theta_2 \qquad H_{13}:\varphi\geq\theta_3 \qquad H_{14}:\varphi\leq\theta_4 \qquad H_{15}:\lambda\leq\theta_5$$

where $\theta_1,\theta_2,\theta_3,\theta_4$ and θ_5 are the bioequivalent limits.

The overall hypothesis in relation to individual bioequivalence is expressed as

$$H_0\text{: No-Bioequivalence} = H_{01}\cup H_{02}\cup H_{03}\cup H_{04}\cup H_{05}$$

$$H_1\text{: Bioequivalence} = H_{11}\cap H_{12}\cap H_{13}\cap H_{14}\cap H_{15}$$

This sort of mixed hypothesis is tested using Roy's *intersection-union principle* [15, 16]. Following this principle the null hypothesis of no-bioequivalence is rejected with a significance level α if all null hypotheses are rejected at level α.

The hypotheses concerning β and φ can be tested in a *two one-sided* way [17] using interval estimation with a confidence of $1-2\cdot\alpha$, being α the desired significance level. If the whole confidence interval lies inside the bioequivalence limits both null hypotheses will be rejected. Although exact confidence intervals are available via pivotal statistics [6, 7, 8], we have preferred to estimate asymptotic confidence intervals using a t-distribution with $n-2$ degrees of freedom [8, 18], where n is the number of subjects. The behaviour of such confidence intervals is quite good [18] and they are easier to implement than exact intervals. However, there is a problem with the confidence interval estimation of β and φ, what is known as the Gleser-Hwang effect. Gleser and Hwang [19] demonstrated that when the number of subjects is fixed, every confidence interval for β of finite length has confidence equal to 0. Nevertheless, Gleser [18] showed that if the quantity known as signal-to-noise, $\kappa_R^2=\sigma_{BR}^2/\sigma_{WR}^2$, and the number of subjects are large enough ($\kappa_R^2\geq 1$ and more than 25 subjects) the asymptotic confidence is reasonably close to the desired coverage probability.

The hypothesis concerning within-subjects variances can be tested by estimating the $1-\alpha$ percentile of λ, α being the desired significance level. This percentile is estimated as $\hat{\lambda}\cdot F_{1-\alpha,\nu_1,\nu_2}$ [10], where $F_{1-\alpha,\nu_1,\nu_2}$ is the $1-\alpha$ percentile of F-distribution with $\nu_1=\nu_2=n\cdot(k-1)$ degrees of freedom, where k is the number of measures by subject and formulation.

At this point it is necessary to decide the bioequivalent limits for the five hypotheses. Since the limits are a subjective decision, any arbitrary value might be taken to evaluate individual

bioequivalence, but we will try to adapt the FDA's suggestions to SEM components. The limits for averages difference are found from the well-known average bioequivalence inequality $(\mu_T - \mu_R)^2 \leq (\ln 1.25)^2$ so the limits will be $\varphi \in [-\ln 1.25, \ln 1.25]$. The FDA considers a within-subject standard deviation ratio to be large when it exceeds 1.5, so the limit for λ could be $1.5^2 = 2.25$. For β we could use the fact that β links both between-subject variances, $\sigma^2_{BT} = \beta^2 \sigma^2_{BR} \rightarrow \beta^2 = \sigma^2_{BT} / \sigma^2_{BR}$. Hence we could fix the limits in the within-subject variance way,

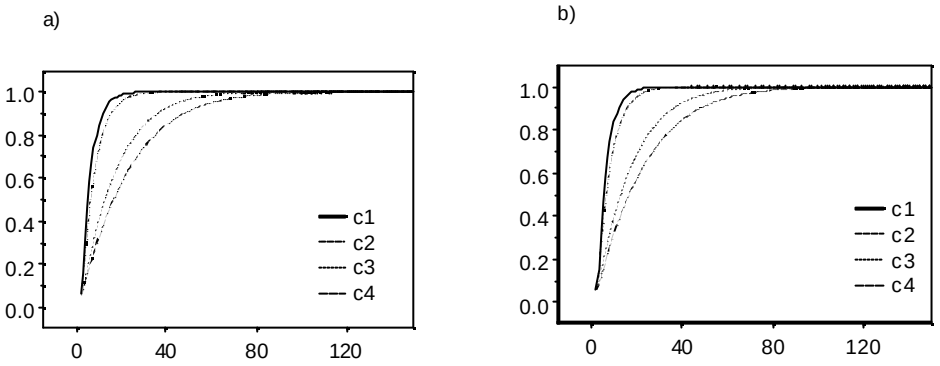


Figure 1. Power curves related to the null hypotheses of difference of means. a) $H_0 : \varphi < -\log 1.25$; b) $H_0 : \varphi > \log 1.25$. Power corresponds to Y-axis and X-axis represent the sample size. The parameters associated with each curve are shown in Table I.

so none of the between-subject standard deviations can exceed the other one by more than 50% and this means the limits for β are $\left[\frac{2}{3}, 1.5\right]$.

These limits are an adaptation from FDA suggestions, but obviously it would be possible to find other more or less restrictive limits, depending on the user's requirements.

3.4 Power of the test

Berger and Hsu [20] pointed out that intersection-union test procedure can be quite conservative with a type I error rate lower than would be desired. Initially, a low type I error rate is not an undesirable property, but the difficulty in rejecting all H_0 comes from the power of the test when H_0 is false. Since the power of the overall hypothesis of bioequivalence is the product of the power of five hypotheses, it is worth studying the power of these hypotheses separately. For example, if an overall power of 80% is desired it is necessary for each hypothesis to have a power

of at least 95%. In order to estimate the power of hypotheses concerning β and φ we will use a non-central t-distribution and, in the case of λ, a non-central F distribution. We set as actual values of β, φ and λ those which define perfect individual bioequivalence because this is the maximum power situation. We calculate the sample size necessary to reach a power of 95% for each hypothesis; as we are in the maximum power situation this quantity should be taken as a minimum sample size.

Table I. Combinations of parameters to estimate the power concerning the difference of means, β and λ hypotheses. σ^2_{BR} is the between-subjects variance of the reference formulations, σ^2_{WR} and σ^2_{WT} are the within-subject variances, α and β are the intercept and slope of structural equation, respectively, μ_R is the reference formulation average, φ is the difference of formulation averages, κ^2_R and κ^2_T are the reference and test formulation signal-to-noise, λ is the within-subjects variances ratio, k is the number of determinations by subject and formulation, n_1, n_2 and n_3 represent the number of subjects needed to reject with a power of 95% the null hypotheses concerning difference of means, β and λ respectively

Difference of means hypotheses: parameter combinations							
Combination	σ^2_{WR}	σ^2_{WT}	β	α	μ_R	φ	n_1
c1	0.03	0.03	1	0	5	0	15
c2	0.03	0.03	1.3	-1.5	5	0	19
c3	0.1	0.1	1	0	5	0	45
c4	0.1	0.1	1.3	-1.5	5	0	60
β hypotheses: parameter combinations							
Combination	σ^2_{BR}	σ^2_{WR}	σ^2_{WT}	β	κ^2_R	κ^2_T	n_2
c1	0.05	0.05	0.05	1	1	1	286
c2	0.1	0.05	0.05	1	2	2	121
c3	0.2	0.05	0.05	1	4	4	56
c4	0.3	0.05	0.05	1	6	6	37
c5	0.4	0.05	0.05	1	8	8	27
c6	0.5	0.05	0.05	1	10	10	22
λ hypotheses: parameter combinations							
Combination	λ	k	n_3				

c1	1	2	65
c2	1	3	48
c3	1	4	41

The power of the hypothesis concerning φ is a function of both within-subject variances, β, the number of subjects and the actual difference of means. The relationship among power and within-subject variances and β is inverse; this means that the greater within-subject variances and β are, the greater is the standard error and the lower is the power. With the number of individuals the relationship is direct. Figure 1 shows power curves related to the hypothesis concerning differences of means. The parameters of each curve and the number of subjects needed to reach a power of 95% for each test are described in Table I. Since we have assumed a no-difference of means (maximum power situation) this number of subjects must be taken as a minimum sample size.

In the case of the hypothesis about β, we first express the β standard error as follows,

$$\mathrm{Var}(\hat{\beta}) = \frac{1}{n}\left[\frac{\bar{\sigma}^2_{WT}\sigma^2_{BR} + \bar{\sigma}^2_{WT}\sigma^2_{WR} + \bar{\sigma}^2_{WR}\sigma^2_{BT}}{\sigma^4_{BR}}\right] = \frac{1}{n}\frac{\bar{\sigma}^2_{WT}\bar{\sigma}^2_{WR}}{\sigma^4_{BR}}\left[\frac{\bar{\sigma}^2_{WT}\sigma^2_{BR} + \bar{\sigma}^2_{WT}\bar{\sigma}^2_{WR} + \bar{\sigma}^2_{WR}\sigma^2_{BT}}{\bar{\sigma}^2_{WT}\bar{\sigma}^2_{WR}}\right] =$$

$$\frac{\beta^2}{n}\frac{\bar{\sigma}^2_{WT}\bar{\sigma}^2_{WR}}{\beta^2\sigma^2_{BR}\sigma^2_{BR}}\left[\kappa^2_R + \kappa^2_T + 1\right] = \frac{\beta^2}{n}\left[\frac{\left[\kappa^2_R + \kappa^2_T + 1\right]}{\kappa^2_R\kappa^2_T}\right]$$

where $\bar{\sigma}^2_{WR} = \sigma^2_{WR}/k$, $\bar{\sigma}^2_{WT} = \sigma^2_{WT}/k$ are the attenuated within-subject variances and $\kappa^2_R = \frac{\sigma^2_{BR}}{\bar{\sigma}^2_{WR}}$ and $\kappa^2_T = \frac{\sigma^2_{BT}}{\bar{\sigma}^2_{WT}}$ are known as reference and test signal-to-noise, respectively. Therefore, the power of the hypothesis involving β is a function of the actual value of β, the sample size and both signal-to-noise. The relationship among power and both signal-to-noise is inverse because if $\kappa^2_R, \kappa^2_T \to 0$ then $\mathrm{Var}(\hat{\beta}) \to \infty$, but if κ^2_R or $\kappa^2_T \to \infty$ then $\mathrm{Var}(\hat{\beta}) \to 0$. From Figure 2 we can see that power is strongly related to both signal-to-noise and that the number needed to reach a power of 95% decreases quickly as signal-to-noises increase. The parameters used to calculate these curves are described in Table I.

The power of the hypothesis related to λ is a function of the actual value of λ, the sample size and

the number of determinations by subject and formulation. Figure 3 shows power curves related to the null hypothesis that λ is beyond 2.25; the parameters associated with these curves are shown in Table I.

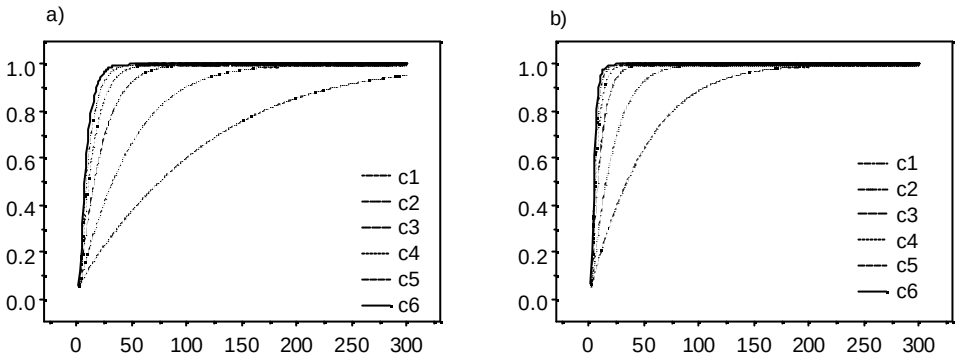


Figure 2. Power curves related to the null hypotheses of β. a) $H_0 : \beta < 2/3$; b) $H_0 : \beta > 1.5$. Power corresponds to Y-axis and X-axis represent the sample size. The parameters associated with each curve are shown in Table I.

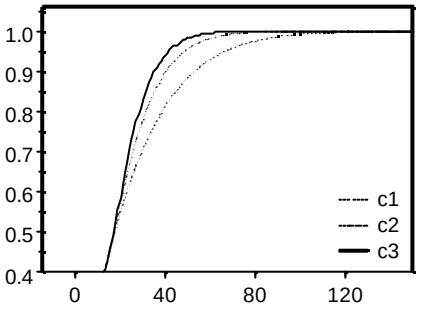


Figure 3. Power curves related to the null hypothesis of $H_0 : \lambda < 2/3$. Power corresponds to Y-axis and X-axis represent the sample size. The parameters associated with each curve are shown in Table I.

4. EXAMPLE

Hyslop *et al.* [4] analysed data from a study of two formulations of Verapamil published in [21]. They used the FDA's linearized index (η) procedure taking into account that data were sampled in four different sequences. The estimates were:

$\hat{\mu}_T = 5.6360 \quad \hat{\mu}_R = 5.6532 \; \hat{\sigma}^2_{WR} = 0.0743 \quad \hat{\sigma}^2_{WT} = 0.1272 \quad \hat{\sigma}^2_D = -0.04395 \quad \hat{\eta} = -0.1761$

The estimated 95th percentile of η was –0.0429 (< 0) concluding individual bioequivalence.

The data were picked up using four sequences, and assuming the non-existence of a sequence

effect we proceed by joining all subjects in a unique sequence with two measurements by formulation and subject. The individual means estimate were provided by: $\overline{R}_i = \frac{1}{2}\sum_{j=1}^{2} R_{ij} = u_{Ri} + \frac{1}{2}\sum_{j=1}^{2} e_{ij}$ and $\overline{T}_i = \frac{1}{2}\sum_{j=1}^{2} T_{ij} = u_{Ti} + \frac{1}{2}\sum_{j=1}^{2} e_{ij}$. Applying the methods described in section 3.2, the SEM estimates obtained were:

$\hat{\alpha} = 0.7304$	$\hat{\beta} = 0.8646$	$\hat{\mu}_R = 5.6661$	$\hat{\varphi} = -0.036$
$S.E.(\hat{\alpha}) = 1.1789$	$S.E.(\hat{\beta}) = 0.2074$	$\hat{\sigma}^2_{BR} = 0.2472$	$S.E.(\hat{\varphi}) = 0.0926$

$\hat{\sigma}^2_{WR} = 0.0912 \quad \hat{\sigma}^2_{WT} = 0.1290 \quad \hat{\lambda} = 1.4146$

and using these estimated parameters we can proceed with the hypotheses tests associated with individual bioequivalence.

1. Hypothesis concerning β. The bioequivalent limits for β are $[2/3, 1.5]$. The 90% confidence interval for $\hat{\beta}$ is [0.5084 , 1.2208] which has a lower limit lower than the bioequivalent limit, so we don't reject the no-bioequivalence hypothesis of $\beta < 2/3$.
2. Hypothesis concerning φ. The bioequivalent limits for φ are $[-\ln 1.25, \ln 1.25] \approx [-0.2231, 0.2231]$. The 90% confidence interval for $\hat{\varphi}$ is $[-0.1961, 0.1225]$ which is completely inside the bioequivalent interval, thus we reject the null hypothesis about φ.
3. Hypothesis concerning within-subject variances. The estimate of the ratio of within-subjects variances is $\hat{\lambda} = \hat{\sigma}^2_{WT}/\hat{\sigma}^2_{WR} = 1.4146$. The 95th percentile of F distribution with 23 and 23 degrees of freedom is 2.014, and so the 95th percentile of $\hat{\lambda}$ is 2.8495, greater than 2.25. Thus, we don't reject the null hypothesis concerning λ.

Therefore, the decision is no-bioequivalence due to β and to λ. Table II shows the power of each hypothesis under two alternative hypotheses: parameters are equal to their estimate and parameters are those defined by perfect individual bioequivalence. We have also estimated the power with a sample size of 50 and 100 subjects. From the results it seems that a number of subjects between 50 and 100 would yield a reasonable power to take a decision.

Disagreement between the FDA index and the SEM approach in this case could be explained through the lack of power of the SEM approach. However, the greater power of the FDA approach might be due to aggregation of bioequivalent limits. The FDA index limit is based on

the addition of limits for each component, so if a component has a value lower than its limit this allows another component to have a value greater than its own limit. Suppose a situation where the difference between within-subject variances was 0. As the limit proposed in the FDA guidelines for within-subject difference is 0.02, the term σ_D^2 can exceed its own limit (0.03) in 0.02 and individual bioequivalence can be concluded. Now suppose that the subject-by-formulation interaction variance was also 0, then the difference of means might have a value of $\log(1.25)^2 + 0.05 = 0.09979$ (limit for difference of means plus limit for $\sigma_D^2 + \sigma_{WT}^2 - \sigma_{WR}^2$) and individual bioequivalence could be concluded.

Table II. Power of the case example hypothesis. H_1 is the alternative hypothesis assumed to estimate power, n is the number of subjects. The column "Overall" refers to overall power related to the hypothesis of individual bioequivalence.

		H_0					
H_1	n	$\beta<2/3$	$\beta>1.5$	$\varphi<-\log 1.25$	$\varphi>\log 1.25$	$\lambda>2.25$	Overall
Observed $\varphi=-0.036$	23	0.2267	0.9038	0.6148	0.8563	0.2878	0.0310
$\beta=0.8646$	50	0.3941	0.9967	0.8986	0.9913	0.4921	0.1721
$\lambda=1.4146$	100	0.6284	0.9999	0.9936	0.9999	0.7472	0.4664
	23	0.4289	0.7183	0.7105	0.7105	0.6034	0.0938
Bio-equality	50	0.7204	0.9541	0.9509	0.9509	0.8844	0.5496
$\varphi=0,\beta=1,\lambda=1$	100	0.9369	0.9989	0.9987	0.9987	0.9914	0.9254

5. DISCUSSION

Since the seminal paper of Anderson and Hauck [1] the individual bioequivalence problem has received much attention and numerous procedures have been proposed [22, 23, 24, 25, 26, 27]. The need to demonstrate individual bioequivalence between two formulations before a clinician may switch one formulation for another is still being discussed [28]. However, the goal of this paper is not to discuss the importance of individual bioequivalence, but rather to demonstrate that the SEM is a useful approach to the problem.

Chen [29] proposed nine desirable properties that a bioequivalence criterion should have. The SEM approach has them all, but two in particular should be mentioned. Chen argue that "The drug sponsors should be able to estimate appropriate sample size for the study in order to meet the criteria", and that "The statistical method should permit the possibility of sequence and period

effect, as well as missing data". Sample size estimation is a question that has been tackled through the power analysis. Potential users of the SEM approach should pay attention to the magnitude of within-subjects variances and, above all, to signal-to-noise of both formulations. The power of he hypothesis concerning λ can be increased by taking more determinations by subject and formulation, whereas a higher signal-to-noise would yield a better power for β. The way to increase signal-to-noise is through increasing the between-subjects variance of reference method and this means collecting subjects with a greater spread of data. In fact, a larger signal-to-noise of reference method will generate a higher power and also avoid the Gleser-Hwang effect. With respect to sample size, the power analysis indicates that the FDA's suggestion of a minimum number of 12 subjects [2] is quite inadequate for SEM analysis, where a sample size between 50 and 100 subjects would be more satisfactory in terms of power.

In relation to sequence effect, even though the SEM procedure might easily model this effect including a covariate [8], we believe that in the context of a bioequivalence study the absence of sequence effect is a measurement model assumption, like normal distribution or linearity of the effects, and we should be reasonably convinced about the non-existence of this effect.

In this paper, we have assumed both formulations were replicated and both within-subject variances were estimated from these replicates, but what would happen if only one formulation was replicated? In this case, we would only be able to estimate one of the within-subject variances from the replicates, but nevertheless, the model would be identified and estimation could still be carried out. The formulae of estimates and standard errors would, however, be different [8].

SEM is a disaggregate procedure because it evaluates separately each component of the model related to individual bioequivalence, whereas the FDA index is an aggregate approach. Some authors have argued in favour of disaggregate as opposed to an aggregate approach [30, 31, 32, 33]. The most important criticism against the aggregate procedure in questions of individual bioequivalence is the trade-off among components, namely, the trade-off between average and within-subject components and, specifically, that within-subject variance of tested formulation is greater than within-subject variance of reference formulation ($\sigma^2_{WT} < \sigma^2_{WR}$). The FDA Individual Bioequivalence Working Group took this matter into account and proposed some solutions β4], such as weighting the FDA index components in order to avoid the trade-off. However, the question is not only the trade-off when $\sigma^2_{WT} < \sigma^2_{WR}$, but when any component has a value lower

than its bioequivalent limit, as has been shown in the case example. This "limit trade-off" could lead to a bizarre situation where individual bioequivalence is achieved but average bioequivalence isn't. The root of this problem lies in the fact that the bioequivalent limit for the aggregate index is obtained by combining disaggregated limits for each component. In our view, a disaggregated criterion is more consistent and appropriate for bioequivalent limits derived in a disaggregate way such as those proposed by the FDA.

A disaggregate criterion has been criticized because it can produce multiplicity problems through combining different hypotheses and the need to specify multiple limits [35]. Since the intersection-union principle has been used in the present study, the multiplicity problem is avoided; as for the multiple limits, the limit for the aggregate criterion is established by adding multiple limits so no extra complexity results from using multiple acceptance limits in a disaggregate approach.

Summing up, it was demonstrated that SEM is a useful approach to the individual bioequivalence problem. The fact that SEM is a disaggregate approach has two advantages. Firstly, it enables the sources of no-bioequivalence to be easily found; and secondly, the aggregation of the bioequivalent limits is avoided. An additional advantage could be that because SEM is a regression procedure it is more straightforward approach for potential users.

ACKNOWLEDGMENTS

We thank to Dr. A. Cobos for his criticism on an earlier draft of this work. We are also grateful to two anonymous referees who made helpful comments on the manuscript. Robin Rycroft from SAL (Universitat de Barcelona) improved the English text.

REFERENCES

1. Anderson S., Hauck WW. Consideration of individual bioequivalence. *Journal of Pharmacokinetics and Biopharmaceutics* 1990; **18:** 259-274

2. U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration , Center for Drug Evaluation and Research (CDER). Guidance for Industry. Statistical Approaches to Establishing Equivalence. CDER, 2001

3. Schall R, Luus HG. On population and individual bioequivalence. *Statistics in Medicine* 1993; **12**: 1109-1124.

4. Hyslop T, Hsuan F, Holder DJ. A small sample confidence interval approach to assess individual bioequivalence. *Statistics in Medicine* 2000; **19:** 2885-2897

5. Kelly GE. Use of the structural equations model in assessing the reliability of a new measurement technique. *Applied Statistics* 1985; **34**(3):258-263

6. Tan CY and Iglewicz B. Measurement-methods comparisons and linear statistical relationship. *Technometrics* 1999, **41**(3): 192-201

7. Dragalin V and Fedorov V. The total least squares method in individual bioequivalence evaluation. *Biometrical Journal* 2001, **43**(4): 399-420

8. Cheng CL, van Ness JW. *Statistical Regression with Measurement Error.* Kendall's Library of Statistics. Arnold: London, 1999

9. Cox DR. Partial likelihood. *Biometrika* 1975; **62:** 269-276

10. Chinchilli VM, Esinhart JD and Miller WG. Partial likelihood analysis of within-unit variances in repeated measurement experiments. *Biometrics* 1995; **51**(1): 205-216.

11. Birch MW. A note on the maximum likelihood estimation of a linear structural relationship. *Journal of the American Statistical Association* 1964; **59**: 1175-1178

12. Gleser LJ. A note on G.R. Dolby's unreplicated ultrastructural model. *Biometrika* 1985, **72:** 117-124.

13. Fuller WA. *Measurement error models*. John Wiley & Sons: New York. 1987.

14. Lehman EL. *Testing statistical hypotheses, second edition.* John Wiley & Sons: New York. 1986.

15. Roy SN. On a heuristic method of test construction and its use in multivariate analysis. *Annals of Mathematical Statistics* 1953; **24**: 220-238

16. Wellek, S. On a reasonable disaggregate criterion of population bioequivalence admitting of resampling-free testing procedures. *Statistics in Medicine* 2000; **19**: 2755-2767

17. Schuirmann DJ. A comparison of the two one-sided test procedure and the power approach for assessing the equivalence of average bioavailability. *Journal of Pharmacokinetics and Biopharmaceutics* 1987; **15:** 657-680.

18. Gleser LJ. Confidence intervals for the slope in a linear errors-in-variables regression model. In *Advances in Multivariate Statistical Analysis* 1987. Ed. K. Gupta. D. Reidel: Dordrecht. 85-109

19. Gleser LJ and Hwang JT. The non-existence of 100(1-α)% confidence sets of finite expected diameter in errors-in-variables and related models. *The Annals of Statistics* 1987, **15:** 1351-1362.

20. Berger RL, Hsu JC. Bioequivalence trials, intersection-union tests and equivalence confidence sets. *Statistical Science* 1996; **11**(4): 283-319

21. Chinchilli VM. The Assessment of individual and population bioequivalence. *Journal of Biopharmaceutical Statistics* 1996. **6:** 1-14

22. Sheiner LB. Bioequivalence revisited. *Statistics in Medicine* 1992; **11**: 1777-1788

23. Holder DJ, Hsuan F. Moment-based criteria for determining bioequivalence. *Biometrika* 1993; **80**(4): 835-846

24. Esinhart JD, Chinchilli VM. Extension to the use of tolerance intervals for the assessment of individual bioequivalence. *Journal of the Biopharmaceutical Statistics* 1994; **4**(1): 39-52

25. Vuorinen J, Turunen J. A three-step procedure for assessing bioequivalence in the general mixed model framework. *Statistics in Medicine* 1996; **15**(24): 2635-2655

26. Gould AL. A practical approach for evaluating population and individual bioequivalence. *Statistics in Medicine* 2000; **19**(20): 2721-2740

27. Lin LI. Total deviation index for measuring individual agreement with applications in laboratory performance and bioequivalence. *Statistics in Medicine* 2000; **19**: 255-270

28. Senn S. Statistical issues in bioequivalence. *Statistics in Medicine* 2001; **20**: 2785-2799

29. Chen ML. Individual bioequivalence – A regulatory update. *Journal of Biopharmaceutical Statistics* 1997; **7**(1): 5-11

30. Liu JP, Chow SC. Some thoughts on individual bioequivalence. *Journal of Biopharmaceutical Statistics* 1997; **7**(1): 41-48.

31. Vuorinen J. A practical approach for the assessment of bioequivalence under selected higher-order cross-over designs. *Statistics in Medicine* 1997; **16:** 2229-2243

32. Hauschke D, Steinijans VW. The U.S. draft guidance regarding population and individual bioequivalence approaches: comments by a research-based pharmaceutical company. *Statistics in Medicine* 2000; **19:** 2769-2774

33. Endrenyi L, Hao Y. Asymmetry of the mean-variability tradeoff raises questions about the model in investigations of individual bioequivalence. *International Journal of Clinical Pharmacology and Therapeutics* 1998; **36**(8): 450-457.

34. Hauck WW, Chen ML, Hyslop T, Patnaik R, Schuirmann D and Williams R. Mean difference vs. variability reduction: tradeoffs in aggregate measures for individual bioequivalence. *International Journal of Clinical Pharmacology and Therapeutics* 1996; **34**(12): 535-541.

35. Chen ML, Patnaik R, Hauck WW, Schuirmann DJ, Hyslop T and Williams R An individual bioequivalence criterion: regulatory considerations. *Statistics in Medicine* 2000; **19**: 2821-2842

The structural error-in-equation model to evaluate individual bioequivalence

Josep L. Carrasco and Lluís Jover

Bioestadística, Departament de Salut Pública. Universitat de Barcelona, Barcelona, Spain

ABSTRACT

Individual bioequivalence is assessed using an extension of the classical structural equation model, known as the error-in-equation model. This procedure estimates the relationship between individual means, as well as the variance-covariance parameters, of the bioavailabilities measurement model, by considering individual means related through a straight line with a random term, whereas the classical structural equation considers a deterministic linear relationship. We discuss the implications of this approach in terms of the bioavailabilities measurement model and how to test the overall hypothesis of individual bioequivalence. Both models are compared in a simulation study and a case examp le is presented.

KEY WORDS: Individual bioequivalence, structural equation model, structural error-in-equation model, union-intersection principle

1. INTRODUCTION

Two formulations are considered bioequivalent if they have the same amount of bioavailabilities. If this condition holds, they can then be assumed to have the same therapeutic effect (1). Bioavailabilites are measured using a pharmacokinetic curve, where the area under the curve (AUC), the maximum concentration (C_{max}) and the time to reach the maximum concentration (T_{max}) are the most frequently used measures.

If the bioavailabilites are measured from n individuals k times, it is assumed that taking logarithms on bioavailabilities the underlying measurement model is (2):

$$T_{ij} = u_{Ti} + e_{Tij}$$
$$R_{ij} = u_{Ri} + e_{Rij}$$

where T_{ij} and R_{ij} are the log-bioavailabilities of tested and reference formulations respectively, μ_T and μ_R are the overall averages of T and R, u_{Ti} and u_{Ri} are the mean deviations from the overall averages of individual *i*, and e_{Tij} and e_{Rij} are the random deviations of *i* individual on *j*

determination, with i=1,..,n and j=1,...,k. It is assumed that $u_{Ti} \sim N(\mu_T, \sigma_{BT})$, $u_{Ri} \sim N(\mu_R, \sigma_{BR})$, $e_{Tij} \sim N(0, \sigma_{WT})$ and $e_{Rij} \sim N(0, \sigma_{WR})$.

Formerly bioequivalence was assayed by comparing the overall means of the bioavailabilites (3) and if the difference between μ_T and μ_R was sufficiently small then bioequivalence was accepted. However, Anderson and Hauck (4) demonstrated that this equality was insufficient to guarantee switchability between formulations and defined bioequivalence as "average bioequivalence". They then proposed two new bioequivalence concepts: population bioequivalence and individual bioequivalence.

Population bioequivalence is achieved if it can be demonstrated that the bioavailabilites of both formulations are from the same probability distribution. Since a normal distribution is assumed for bioavailabilites, populational bioequivalence is reduced to demonstrate equality of averages plus equality of overall variances, a concept that can be associated with the prescribability of a new formulation.

Individual bioequivalence requires equality of each individual's bioavailabilites, and hence operates with a probability distribution that is conditioned to the individual rather than the population distribution. In this case, individual bioequivalence requires equality between the overall averages, μ_T and μ_R, between the individual mean deviations, u_{Ri} and u_{Ti}, and between the variances of the within-subjects variances σ^2_{WR} and σ^2_{WT}. Thus, true individual bioequivalence requires perfect agreement among the bioavailabilities of each individual. However, this criterion is usually relaxed so that it is sufficient for declaring individual bioequivalence if the differences are within certain limits, known as the limits of bioequivalence.

The criterion proposed by the Food and Drug Administration (5) is an aggregate index which includes all the terms involved in individual bioequivalence. Here it is not our intention to discuss this criterion but rather we wish to use the structural error-in-equation model (SEEM), an extension of the structural equation model (SEM) presented by Carrasco and Jover (6), in order to assess individual bioequivalence.

2. THE MODEL

2.1 Structural Equation Model

The structural equation model assumes that the relationship between the individual means is a straight line $u_{Ti} = \alpha + \beta \cdot u_{Ri}$. This structural equation implies that the average of the tested formulation is $\mu_T = \alpha + \beta \cdot \mu_R$, the between-subjects variance of tested formulation is $\sigma^2_{BT} = \beta^2 \sigma^2_{BR}$ and the covariance between tested and reference formulations is equal to $\sigma_{RT} = \beta \cdot \sigma^2_{BR}$. The difference in overall means can be expressed as $\varphi = \mu_T - \mu_R = \alpha + (\beta - 1) \cdot \mu_R$.

Bioequality can be said to hold when there is equality of means, equality of between-subjects variances and equality between within-subjects variances. Because $\beta = \sigma_{BT}/\sigma_{BR}$ and $\lambda = \sigma^2_{WT}/\sigma^2_{WR}$, individual bioequivalence can be assessed by evaluating φ, β and λ separately. Individual bioequivalence can then be established if φ, β and λ lie within the respective limits of bioequivalence.

Drawing on FDA guidelines for establishing bioequivalence limits, Carrasco and Jover (6) proposed using: $\varphi \in \pm \ln 1.25$ for difference of means, which comes from the criterion for average bioequivalence; $\sigma_{BT}/\sigma_{BR} \in \left[2/3, 1.5\right]$ for between-subjects variances, whereby any of the between-subjects standard deviations can exceed the other one 1.5 times; and finally, $\sigma^2_{WT}/\sigma^2_{WR} \leq 2.25$, whereby the within-subject standard deviation of tested formulation cannot exceed the within-subject standard deviation of the reference formulation more than 2.25 times

The overall null hypothesis of no-individidual bioequivalence can be evaluated testing the following five hypotheses

$$H_{01}: \beta < 2/3 \qquad H_{02}: \beta > 1.5 \quad H_{03}: \varphi < -\ln 1.25 \qquad H_{04}: \varphi > \ln 1.25 \qquad H_{05}: \lambda > 2.25$$
$$H_{11}: \beta \geq 2/3 \qquad H_{12}: \beta \leq 1.5 \quad H_{13}: \varphi \geq -\ln 1.25 \qquad H_{14}: \varphi \leq \ln 1.25 \qquad H_{15}: \lambda \leq 2.25$$

The overall hypothesis in relation to individual bioequivalence is expressed as

$$H_0\text{: No-bioequivalence} = H_{01} \cup H_{02} \cup H_{03} \cup H_{04} \cup H_{05}$$

$$H_A\text{: Bioequivalence} = H_{11} \cap H_{12} \cap H_{13} \cap H_{14} \cap H_{15}$$

A mixed hypothesis of this type can be tested using Roy's *intersection-union principle* (7). Applying this principle, the null hypothesis of no-bioequivalence is rejected at level α if all null hypotheses are rejected at level α.

2.2 Structural Error-in-Equation Model

This model fits the underlying measurement model introducing an error term in the structural equation $u_{Ti} = \alpha + \beta \cdot u_{Ri} + q_i$ assuming $q_i \sim N(0, \sigma_q)$ (8). This term signifies that the relationship between individual means can vary from one individual to another, then $u_{Ti} = \alpha + \beta \cdot u_{Ri}$ denotes an average relationship. In fact, SEEM is no more than a simple regression model between two unobservable variables.

Therefore, we are concerned with a new term in the individual bioequivalence assay: the variance of the equation error. In claiming individual bioequivalence not only must the structural equation be reasonably close to the concordance line (α = 0 and β = 1), but the pair of points (u_{Ri}, u_{Ti}) has to lie near the straight line, so σ_q^2 must be small.

The hypotheses concerning overall means and the within-subjects variance ratio remain the same. In relation to σ_q^2 we have to be assured that the pair of individual means lies near the line. In this order, we propose using a correlation coefficient between u_{Ri} and u_{Ti} rather than σ_q^2. In this case, the expression of this coefficient in terms of the model is:

$$\rho = \frac{\mathrm{cov}(u_R, u_T)}{\sqrt{\mathrm{Var}(u_R) \cdot \mathrm{Var}(u_T)}} = \frac{\sigma_{RT}}{\sqrt{\sigma_{BR}^2 \cdot \sigma_{BT}^2}} = \frac{\beta \cdot \sigma_{BR}^2}{\sqrt{\sigma_{BR}^2 \cdot (\beta^2 \cdot \sigma_{BR}^2 + \sigma_q^2)}} = \frac{\beta \cdot \sigma_{BR}}{\sqrt{\beta^2 \cdot \sigma_{BR}^2 + \sigma_q^2}}.$$

consequently a lower limit for this coefficient has to be set to establish individual bioequivalence.

Our proposal is a correlation coefficient of 0.9. This limit is set intuitively as we understand a value of 0.9 to be a high value, however, another limit might be used were it necessary to vary the restrictive nature of the criterion.

Finally, the ratio of between-subjects variances is

$$\frac{\sigma_{BT}^2}{\sigma_{BR}^2} = \frac{\beta^2 \cdot \sigma_{BR}^2 + \sigma_q^2}{\sigma_{BR}^2} = \frac{\beta^2}{\rho^2},$$

which means that the tolerance concerning the value of β depends on the correlation between u_{Ti} and u_{Ri}.

Therefore, when using SEEM it is necessary to evaluate six hypotheses to assess individual bioequivalence:

$$H_{01}:\frac{\beta}{\rho}<\frac{2}{3}\quad H_{02}:\frac{\beta}{\rho}>1.5\quad H_{03}:\varphi<-\ln 1.25\quad H_{04}:\varphi>\ln 1.25\quad H_{05}:\lambda>2.25\quad H_{06}:\rho<0.9$$

and

$$H_{11}:\frac{\beta}{\rho}\geq\frac{2}{3}\quad H_{12}:\frac{\beta}{\rho}\leq 1.5\quad H_{13}:\varphi\geq-\ln 1.25\quad H_{14}:\varphi\leq\ln 1.25\quad H_{15}:\lambda\leq 2.25\quad H_{16}:\rho\geq 0.9$$

3. INFERENCE

3.1 Maximum Likelihood Estimates

Structural models usually have problems identifying the model. This means that there is not sufficient information in the data to produce maximum likelihood estimates. In such a situation, extra information, such as the knowledge of the value of a parameter, is required. This extra information can be derived from others assays or by taking replicates in the same assay. These replicates can then be used to estimate the within-subject variances, which become the identified model. The SEM introduced need only replicate one of the two formulations to obtain an identifiable model, whereas the SEEM needs to replicate both formulations. Here, we will consider both formulations replicated *k* times over each subject with *k* greater than one.

Chinchilli *et al.* (9) proposed a partial likelihood analysis in which the full likelihood was separate in a conditional likelihood depending on within-subject variances and individual means plus a marginal likelihood based on within-subject variances.

$$L\left(\theta,\sigma^2_{WR},\sigma^2_{WT},R_{ij},T_{ij}\right)=L_{1|2}\left(\theta\,|\,\sigma^2_{WR},\sigma^2_{WT},\overline{R}_i,\overline{T}_i\right)+L_2\left(\sigma^2_{WR},\sigma^2_{WT},W^2_R,W^2_T\right)$$

where

$$\overline{R}_i=\frac{1}{k}\sum_{j=1}^{k}R_{ij}=u_{Ri}+\frac{1}{k}\sum_{j=1}^{k}e_{Rij}=u_{Ri}+e^*_{Rij}\qquad W^2_R=\sum_{i=1}^{n}\sum_{j=1}^{k}\left(R_{ij}-\overline{R}_i\right)^2$$

$$\overline{T}_i=\frac{1}{k}\sum_{j=1}^{k}T_{ij}=u_{Ti}+\frac{1}{k}\sum_{j=1}^{k}e_{Tij}=u_{Ti}+e^*_{Tij},\qquad W^2_T=\sum_{i=1}^{n}\sum_{j=1}^{k}\left(T_{ij}-\overline{T}_i\right)^2$$

L_2 is used to obtain the maximum likelihood estimates of the within-subject variances

$$\hat{\sigma}^2_{WR}=\frac{1}{n\cdot(k-1)}\sum_{i=1}^{n}\sum_{j=1}^{k}\left(R_{ij}-\overline{R}_i\right)^2\quad\hat{\sigma}^2_{WT}=\frac{1}{n\cdot(k-1)}\sum_{i=1}^{n}\sum_{j=1}^{k}\left(T_{ij}-\overline{T}_i\right)^2\quad\hat{\lambda}=\frac{\hat{\sigma}^2_{WR}}{\hat{\sigma}^2_{WT}}$$

where *k* is the number of replicates, *n* the number of subjects and q the remaining parameters of the model. The q maximum likelihood estimates are achieved maximizing L_1, which is equivalent to maximizing the likelihood of a common structural model with no replicates with $\overline{R}_i$ and $\overline{T}_i$ as data and with the knowledge of within-subjects as extra information.

In the case of a simple structural model with no error in the equation, the estimates for q are obtained considering a model where both within-subject variances are known (6, 8), but when there is an error in the equation, the estimate changes because the random error of the tested formulation cannot be considered as known. This can be easily demonstrated by developing $\overline{T}_i$ in terms of the structural equation:

$$\overline{T}_i = u_{Ti} + e^*_{Tij} = \alpha + \beta \cdot u_{Ri} + q_i + e^*_{Tij} = \alpha + \beta \cdot u_{Ri} + \varepsilon_{Tij}.$$

The random term ε_{Tij} comprises both the attenuated within-subject variation and the error of the equation. In this case, the estimation is carried out by considering just the within-subject variance of the known reference formulation with the maximum likelihood estimates (8)

$$\hat{\beta} = \frac{S_{RT}}{S_R^2 - \hat{\sigma}^2_{WR}/k} \qquad \hat{\varphi} = \hat{\alpha} + (\hat{\beta} - 1) \cdot \overline{X}_R$$

$$\hat{\alpha} = \overline{X}_T - \hat{\beta} \cdot \overline{X}_R \qquad \hat{\sigma}^2_{BR} = S_R^2 - \hat{\sigma}^2_{WR}/k \qquad \hat{\sigma}^2_q = S_T^2 - \hat{\beta} \cdot S_{RT} - \hat{\sigma}^2_{WT}/k$$

provided that $S_R^2 > \sigma^2_{WR}/k$ and $S_T^2 \geq S_{RT}^2 \Big/ \left(S_R^2 - \sigma^2_{WR}/k \right)$, where $\overline{X}_R, \overline{X}_T, S_R^2, S_T^2, S_{RT}$ are the sample means, variances and covariance of $\overline{R}_i$ and $\overline{T}_i$, respectively.

Cheng and van Ness (10) proved that $n^{1/2}(\hat{\alpha} - \alpha, \hat{\beta} - \beta)$ has an asymptotically jointly normal distribution with **0** vector mean and covariance matrix equal to

$$\Sigma(\hat{\alpha}, \hat{\beta}) = \begin{bmatrix} \theta + \mu_R^2 \cdot \psi_1 & -\mu_R \cdot \psi_1 \\ -\mu_R \cdot \psi_1 & \psi_1 \end{bmatrix},$$

where $\psi_1 = \sigma^{-4}_{BR} \cdot \left(\theta \left(\sigma^2_{BR} + \frac{\sigma^2_{WR}}{k} \right) + \beta^2 \left(\frac{\sigma^2_{WR}}{k} \right)^2 \right)$ and $\theta = \frac{1}{k}\left(\sigma^2_{WT} + \beta^2 \sigma^2_{WR} \right)$.

The standard error of the difference of means $\hat{\varphi}$ is given by $\mathrm{Var}\left(\hat{\alpha} + (\hat{\beta} - 1) \cdot \mu_R \right)$ which in is equal to $\frac{\theta}{n}$.

3.2 Hypotheses Testing

In this section we explain how to evaluate the hypotheses concerning the SEEM parameters, when an error is assumed in the equation. We address the reader to (6) for a similar discussion of the evaluation of hypotheses concerning the SEM.

3.2.1 Difference of Means

The hypothesis concerning difference of means, φ, will be tested in a two one-sided way, then both null hypotheses will be rejected at level α if the $(1-2\alpha)\%$ confidence interval lies within the bioequivalent interval. The confidence interval concerning φ can be estimated using the property of asymptotic normality, whereas (11) suggests using a t-student distribution in small samples, therefore a t-student distribution with $n-2$ degrees of freedom will be used.

3.2.2 Ratio of between-subject standard deviation

To test the hypotheses concerning the ratio β/ρ we rewrite the hypotheses as

$$H_{01}: \eta_1 = \beta - \tfrac{2}{3}\rho < 0$$

and

$$H_{02}: \eta_2 = \beta - 1.5\rho > 0 .$$

To test this sort of hypothesis we will estimate the $\alpha\%$ percentile of $\hat{\eta}_1$ and the $(1-\alpha)\%$ percentile of $\hat{\eta}_2$ rejecting the hypotheses if $\hat{\eta}_{1,\alpha\%} > 0$ and $\hat{\eta}_{2,1-\alpha\%} < 0$ respectively. These percentiles can be approximated using a procedure based on a Cornish-Fisher expansion (12). Following this procedure we can approximate the $\alpha\%$ percentile of $\hat{\eta} = \hat{\beta} + \theta \cdot \hat{\rho}$ as $\hat{\eta} + (\text{sign } V) \cdot (|V|)^{1/2}$ where $V = (\hat{\beta}_\alpha - \hat{\beta}) \cdot (|\hat{\beta}_\alpha - \hat{\beta}|) + \{\theta^2 \cdot (\hat{\rho}_\alpha - \hat{\rho}) \cdot (|\rho_\alpha - \rho|)\}$, indicating $\hat{\beta}_\alpha$ and $\hat{\rho}_\alpha$ the $\alpha\%$ percentile of $\hat{\beta}$ and $\hat{\rho}$ respectively.

The $\alpha\%$ percentile of $\hat{\beta}$ can be estimated using a t-student distribution with n-1 degrees of freedom (11) whereas the $\alpha\%$ percentile of $\hat{\rho}$ is estimated according to whether the percentile is greater or lower than the median. If α>50% the percentile is estimated as

$$\frac{(1+F_\alpha)\cdot\hat{\rho} + (1-F_\alpha)}{(1+F_\alpha) + (1-F_\alpha)\cdot\hat{\rho}}$$

whereas if α<50% the expression is

$$\frac{(1+F_\alpha)\cdot\hat{\rho}-(1-F_\alpha)}{(1+F_\alpha)-(1-F_\alpha)\cdot\hat{\rho}}$$

where F_α is the α% percentile of an F-distribution with n-2 and n-2 degrees of freedom (13).

3.2.3 Ratio of within-subject variances

Assuming within-subject variabilities are normally distributed, both within-subjects variances follow chi-square distributions with $n\cdot(k-1)$ degrees of freedom (9). Therefore the within-subjects variance ratio follows an F-distribution with $n\cdot(k-1)$ and $n\cdot(k-1)$ degrees of freedom. So the hypothesis concerning within-subjects variances can be tested by estimating the $(1-\alpha)$% percentile of $\hat{\lambda}$, where α is the significance level desired. This percentile is estimated as $\hat{\lambda}\cdot F_{1-\alpha,\nu_1,\nu_2}$, where $F_{1-\alpha,\nu_1,\nu_2}$ is the $(1-\alpha)$% percentile of an F-distribution with $\nu_1=\nu_2=n\cdot(k-1)$ degrees of freedom, where *k* is the number of measures by subject and formulation. The hypothesis will be rejected if $\hat{\lambda}\cdot F_{1-\alpha,\nu_1,\nu_2}<2.25$

3.2.4 Correlation coefficient between individual means

The hypothesis concerning the correlation coefficient between u_T and u_R $H_0:\rho<0.9$ can be evaluated by estimating the α% percentile of $\hat{\rho}$, where α is the significance desired. This percentile is estimated using the procedure explained in section 3.2.2. The null hypothesis is rejected if $\hat{\rho}_{\alpha\%}>0.9$.

3.3 Model selection

The SEEM seems to be a better way to model the log-bioavailabilities measurement model than the SEM because the SEM is no more than a particular case of SEEM, but it is possible that the relationship between the individuals means will be the same for all individuals, in which case the equation should not contain an error term and the SEM would be preferable. Thus, a procedure for deciding between both models is required.

The first step in deciding between both models is related to the value of σ_q^2, because in fact the maximum likelihood estimation of σ_q^2 is $\max\{0, \hat{\sigma}_q^2\}$, but it is possible to find a negative estimate of $\hat{\sigma}_q^2$. In this case the value of $\hat{\sigma}_q^2$ must be set to 0 an estimate the model again, which means using the SEM. So, a negative value of $\hat{\sigma}_q^2$ is a criterion for deciding between the SEM and the SEEM.

If $\hat{\sigma}_q^2$ has a positive value, the likelihood ratio test (LRT) (14) can be used. This test is based on the log-likelihood of the structural model:

$$L \propto -\frac{n}{2}\{\log|\Sigma| + \text{trace}(S\Sigma^{-1}) - \log|S| - p\},$$

where *p* is the number of variables (in our case p=2), Σ is the covariance matrix between $\overline{R}_i$ and $\overline{T}_i$ based on the model and S is the sample covariance matrix between $\overline{R}_i$ and $\overline{T}_i$, which means in the case of SEM

$$\Sigma_1 = \begin{pmatrix} \hat{\sigma}^2_{BR,1} + \hat{\sigma}^2_{WR,1}/k & \hat{\beta}_1\hat{\sigma}^2_{BR,1} \\ \hat{\beta}_1\hat{\sigma}^2_{BR,1} & \hat{\beta}_1^2\hat{\sigma}^2_{BR,1} + \hat{\sigma}^2_{WT,1}/k \end{pmatrix},$$

whereas in the case of SEEM

$$\Sigma_2 = \begin{pmatrix} \hat{\sigma}^2_{BR,2} + \hat{\sigma}^2_{WR,2}/k & \hat{\beta}_2\hat{\sigma}^2_{BR,2} \\ \hat{\beta}_2\hat{\sigma}^2_{BR,2} & \hat{\beta}_2^2\hat{\sigma}^2_{BR,2} + \hat{\sigma}^2_q + \hat{\sigma}^2_{WT,2}/k \end{pmatrix}.$$

Therefore, we can define L_1 and L_2, and under the null hypothesis of $\hat{\sigma}_q^2 = 0$ the quantity $2\cdot(L_2 - L_1)$ is distributed under a chi-square distribution with 1 degree of freedom.

4. SIMULATION STUDY

In order to compare the behaviour of both the SEM and the SEEM in different situations, a simulation study was carried out. We simulated nine combinations of the measurement model parameters (Table I). All the combinations maintained a difference of means of 0 and a ratio of within subject variances of 1. Only the slope of the equation (β) and the correlation between individual means (ρ) varied producing non individual bioequivalence situations in combinations 3, 6 and 9. We took a thousand samples of each parameter combination and we evaluated the

hypotheses associated to individual bioequivalence using either the SEM or the SEEM. We considered 30 and 100 subjects as sample size.

Table I. Parameters of the data sets simulated. The differences of means have been set to 0 and the within-subject variances ratio to 1 in all data sets. Marked rows refer to non individual bioequivalence combinations.

Comb.	μ_R	σ^2_{BR}	σ^2_{WR}	α	β	ρ	σ^2_q	σ^2_{BT}	σ_{BT}/σ_{BR}
1	5	0,5	0,05	0	1	1	0	0,5	1,0000
2	5	0,5	0,05	0	1	0,9	0,1173	0,6173	1,1111
3	**5**	**0,5**	**0,05**	**0**	**1**	**0,75**	**0,3889**	**0,8889**	**1,3333**
4	5	0,5	0,05	1	0,8	1	0	0,32	0,8000
5	5	0,5	0,05	1	0,8	0,9	0,0751	0,3951	0,8889
6	**5**	**0,5**	**0,05**	**1**	**0,8**	**0,75**	**0,2489**	**0,5689**	**1,0667**
7	5	0,5	0,05	-1	1,2	1	0	0,72	1,2000
8	5	0,5	0,05	-1	1,2	0,9	0,1689	0,8889	1,3333
9	**5**	**0,5**	**0,05**	**-1**	**1,2**	**0,75**	**0,56**	**1,28**	**1,6000**

Table II shows the number of rejections of the null hypothesis related to each parameter as well as the overall hypothesis of individual bioequivalence.

Table II. Number of rejections of each null hypothesis. Marked rows refer to non individual bioequivalence combinations.

		SEM				SEEM					Expectation of β		Rejections of $H_0: \sigma_q^2 = 0$
Comb	n	φ	β	λ	Overall	φ	η	ρ	λ	Overall	SEM	SEEM	4.3
1	30	99.7	99.9	72.6	72.2	99.7	99.7	99.8	72.6	71.9	1.01	1.01	4.3
	100	100	100	99.4	99.4	100	100	100	99.4	99.4	1.01	1.01	97.4
2	30	88.0	94.4	67.2	55.2	90.0	94.8	16.7	67.2	8.9	1.12	1	100
	100	99.9	100	99.0	98.9	99.9	100	11.5	99.0	11.5	1.49	0.99	100
3	**30**	**58.4**	**37.5**	**71.5**	**14.9**	**69.4**	**31.4**	**0.0**	**71.5**	**0.0**	**1.47**	**1.01**	**100**
	100	**97.9**	**41.1**	**99.3**	**39.6**	**99.2**	**58.6**	**0.0**	**99.3**	**0.0**	**1.15**	**1.01**	**100**
4	30	99.5	74.1	67.5	51.8	99.5	77.5	99.2	67.5	53.5	0.80	0.80	4.7
	100	100	99.7	99.0	98.7	100	99.7	100	99.0	98.7	0.80	0.80	5.6
5	30	93.7	88.7	73.3	62.3	94.1	87.1	18.4	73.3	12.7	0.88	0.81	93.0
	100	100	100	99.6	99.6	100	100	15.3	99.6	15.2	0.88	0.80	100
6	**30**	**75.2**	**79.3**	**73.6**	**43.7**	**80.5**	**73.1**	**0.1**	**73.6**	**0.0**	**1.15**	**0.84**	**100**
	100	**99.4**	**98.1**	**99.6**	**97.2**	**99.6**	**99.5**	**0.0**	**99.6**	**0.0**	**1.13**	**0.83**	**100**
7	30	98.1	98.2	69.9	67.2	98.0	96.4	99.8	69.9	65.4	1.20	1.21	4.7
	100	100	100	99.0	99.0	100	100	100	99.0	99.0	1.20	1.20	4.9
8	30	74.0	51.4	74.2	26.4	78.7	56.6	14.1	74.2	4.7	1.38	1.20	98.6
	100	100	75.0	99.1	74.1	100	88.2	7.6	99.1	6.9	1.37	1.19	100
9	**30**	**40.2**	**5.0**	**71.9**	**0.8**	**57.2**	**3.6**	**0.0**	**71.9**	**0.0**	**1.87**	**1.21**	**100**
	100	**92.3**	**0.6**	**99.5**	**0.6**	**95.9**	**1.2**	**0.0**	**99.5**	**0.0**	**1.83**	**1.21**	**100**

Most notable among our results was the fact that the structural equation model (SEM) fails to detect no bioequivalent situations when the relationship between u_{Ti} and u_{Ri} is not deterministic. For example, in situations 3 and 6 where the lack of bioequivalence is due only to correlation, the SEM declares bioequivalence 14.9% and 39.6% times in combination 3, and 43.7% and 97.2% times in combination 6, whereas these percentages are zero when the SEEM model is used.

Another point worth highlighting is the power of hypotheses concerning the difference of means. This was found to be greater in the SEEM when there is a random error in the structural equation. This would seem to be related to the fact that the SEM overestimates the slope of the equation when there is a random term in the equation, as it can be seen if the expectation of β using both models is compared.

The behaviour of the likelihood ratio test when deciding between both models is very good, with a type-I error rate that is very close to the 5% desired (combinations 1, 4 and 7) and a high power in the remaining combinations.

5. CASE EXAMPLE

We assayed individual bioequivalence using the dataset 3.d provided by the Food and Drug Administration (15). The bioavailabilities of reference and tested formulation were measured twice on 34 individuals. The bioavalability analysed was the log-AUC.

The estimates using both the SEM and SEEM are shown in Table III.

Table III. Estimations of both SEM and SEEM.

Model	$\hat{\alpha}$	$\hat{\beta}$	$SE(\hat{\beta})$	$\hat{\mu}_R$	$\hat{\sigma}^2_{BR}$	$\hat{\sigma}^2_q$	$\hat{\sigma}^2_{WR}$	$\hat{\sigma}^2_{WT}$
SEM	1.5035	0.8045	0.0799	7.2870	0.1833	---	0.0431	0.0462
SEEM	2.4069	0.6805	0.0756	7.2870	0.1946	0.0485	0.0431	0.0462

First we decided which model should be used by testing the null hypothesis of $\sigma^2_q = 0$ applying the log-likelihood ratio test (LRT) proposed in section 3.3. We then calculated the mean of the log-bioavailabilities from each individual and their sample covariance matrix,

$$S = \begin{pmatrix} 0.2162 & 0.1325 \\ 0.1325 & 0.1618 \end{pmatrix}.$$

The covariance matrices based on each model were

$$\Sigma_{SEM} = \begin{pmatrix} 0.2049 & 0.1475 \\ 0.1475 & 0.1418 \end{pmatrix}$$

and

$$\Sigma_{SEEM} = \begin{pmatrix} 0.2162 & 0.1324 \\ 0.1324 & 0.1618 \end{pmatrix}$$

giving log-likelihoods of $L_{SEM} = -25.828$ and $L_{SEEM} = -17$. The value of $LRT = 17.65$ was significant at level α = 5% compared to a critical value of a chi-square distribution with 1 degree of freedom. So, the decision was to reject the null hypothesis of $\sigma_q^2 = 0$ and to use the SEEM to assay individual bioequivalence. Thus, we evaluated the six hypotheses using a type I error of 5% using the procedures outlined in section 3.2.

First we evaluated both hypotheses concerning the differences of means and estimated the 90% confidence interval. The point estimate of the difference of means was $\hat{\varphi} = \hat{\alpha} + (\hat{\beta} - 1) \cdot \hat{\mu}_R = 0.0791$ and its standard error was 0.0312. The 90% confidence interval built using a t-student distribution with 32 degrees of freedom was [0.0262 ; 0.1319] which lay completely within the bioequivalent interval [-log 1.25 ; log 1.25], so that both null hypotheses concerning differences of means were rejected.

We then evaluated the hypothesis related to the correlation coefficient between individual means. The point estimation was $\hat{\rho} = 0.8061$ and the 5% percentile of $\hat{\rho}$ was 0.6754, which is lower than 0.9, consequently the null hypothesis $\rho < 0.9$ was not rejected.

Next the hypotheses about the between-subjects variance ratio were evaluated separately. First we tested the null hypothesis $\eta_1 = \beta - \frac{2}{3}\rho < 0$ and then the null hypothesis $\eta_2 = \beta - 1.5\rho > 0$. The 5% percentile of $\hat{\eta}_1$ was –0.01172 which is lower than 0, so the null hypothesis was not rejected. The 95% percentile of $\hat{\eta}_2$ was –0.5286 which is lower than 0, so the null hypothesis was rejected.

Finally the hypothesis concerning the within-subject variance ratio was evaluated estimating the 95% percentile of $\hat{\lambda}$ which gave a value of 1.8994 lower than 2.25, so the null hypothesis of $\lambda > 2.25$ was rejected.

The result is therefore no individual bioequivalence due to a lack of correlation between individual means and a between-subject variance of the tested formulation that was much lower than that of the reference.

It should be noted that when the SEM was used the decision taken was of individual bioequivalence because we assumed a correlation between individual means of 1 with a consequent bias on $\hat{\beta}$ which led to the rejection of both hypotheses concerning the between-subject variance ratio.

6. DISCUSSION

The structural equation model (SEM) was introduced by Carrasco and Jover (6) as a useful means of evaluating individual bioequivalence. However, the SEM assumes a deterministic relationship between individual averages. The aim of this paper has been illustrate how individual bioequivalence can be evaluated by applying the structural error-in-equation model (SEEM) and the procedures to adopt in choosing between this model and the simpler SEM by using a likelihood ratio test (14), which has been shown to present very good behaviour in the simulation study conducted here.

However, the procedure for assaying individual bioequivalence might seem quite complicated because several hypotheses have to be used which implies the application of different approaches in their evaluation, though it should be noted that this is the cost of moving down to the lower level in the measurement model. This allows us to examine both formulations more thoroughly and, when rejecting individual bioequivalence, to understand the causes of the lack of bioequivalence more readily.

Here, it becomes essential to understand the implications of each parameter in the individual bioequivalence assay. The goal is to be sure that the individual means u_{Ti} and u_{Ri} are close and that the within-subject variation is similar in both formulations.

If the overall means μ_T and μ_R differ too widely there will be a constant difference between u_{Ti} and u_{Ri}, which is related to the concept of constant bias.

If there is a high discrepancy between the between-subject variances σ^2_{BT} and σ^2_{BR}, the probability distributions of u_{Ti} and u_{Ri} will present a very different pattern of dispersion around their mean and a reasonable closeness between u_{Ti} and u_{Ri} cannot be assured. This is linked to the concept of a proportional bias between u_{Ti} and u_{Ri}.

If the correlation between u_{Ti} and u_{Ri} is far from 1, although the probability distributions of u_{Ti} and u_{Ri} have the same shape and mean, we cannot be sure that individual means are close simply as a result of a random variation. The lack of correlation is related to the concept of random bias.

Finally, the lack of closeness between within-subjects variances, σ^2_{WT} and σ^2_{WR}, would mean that it is not possible to ensure that two measures took on a same individual, T_{ij} and R_{ij}, are near due to a too much high within-subject variation in the tested formulation.

The simulation study showed the consequences of selecting the SEM when there is a random term in the structural equation, namely a bias appears in the equation because the underlying measurement model is incorrectly specified. As shown in the case example, this misspecification could lead to a wrong decision being made about individual bioequivalence.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors thanks to Robin Rycroft from SAL (Universitat de Barcelona) for improving the English text.

REFERENCES

1. Chow, S.C.. "Individual bioequivalence - A review of the FDA draft guidance". *Drug Information Journal,* **33**: 435-444. (1999)
2. Schall R, Luus HG. On population and individual bioequivalence. *Statistics in Medicine* **12**: 1109-1124. (1993)
3. Schuirmann DJ. A comparison of the two one-sided test procedure and the power approach for assessing the equivalence of average bioavailability. *Journal of Pharmacokinetics and Biopharmaceutics* ; **15:** 657-680. (1987)
4. Anderson S., Hauck WW. Consideration of individual bioequivalence. *Journal of Pharmacokinetics and Biopharmaceutics* **18:** 259-274. (1990).
5 U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration , Center for Drug Evaluation and Research (CDER). Guidance for Industry. Statistical Approaches to Establishing Equivalence. CDER. (2001).
6 Carrasco, J.L. and Jover, L. Assessing Individual Bioequivalence Using The Structural Equation Model. *Statistics in Medicine*. In press.

7. Roy SN. On a heuristic method of test construction and its use in multivariate analysis. *Annals of Mathematical Statistics* **24**: 220-238. (1953).

8. Cheng CL, van Ness JW. Statistical Regression with Measurement Error. Kendall's Library of Statistics. Arnold: London. (1999).

9. Chinchilli VM, Esinhart JD and Miller WG. Partial likelihood analysis of within-unit variances in repeated measurement experiments. Biometrics 51(1): 205-216. (1995).

10. Cheng CL, van Ness JW. On the unreplicated ultrastructural model. *Biometrika*, **78**, 442-445. (1991).

11. Fuller WA. *Measurement error models*. John Wiley & Sons: New York. (1987).

12. Howe, W.G. Approximate confidence limits on the mean X+Y where X and Y are two tabled independent random variables. *Journal of the American Statistical Association* **69**: 789-794. (1974).

13. Zar, J.H. *Biostatistical Analysis*. 3rd Edition. Prentice-Hall Int. 377-379. (1996).

14. Bentler, P.M. and Bonett, D.G. Significance tests and goodness of fit in the analysis of covariance structures. *Psychological Bulletin* **88**(3): 588-606. (1980).

15 Center for Drug Evaluation and Research. "Bioequivalence Studies" http://www.fda.gov/cder/bioequivdata/index.htm

CAPÍTOL 4

RESUM I CONCLUSIONS

L'objectiu d'aquesta tesi ha estat analitzar els procediments per avaluar la concordança entre mesures i plantejar noves solucions tant pel que fa a la mesura de la concordança en ella mateixa, com pel que fa a la seva utilització com a alternativa per a resoldre problemes actuals en el món de la biomedicina, cas de l'assaig de bioequivalència individual. Encara que en el primer capítol s'han presentat algunes de les metodologies més bàsiques per l'anàlisi de variables qualitatives, la tesi s'ha centrat principalment en l'estudi dels procediments variables quantitatives.

En el segon capítol s'ha comparat el coeficient de concordança amb el coeficient de correlació intraclasse, trobant-se que tots dos són dues expressions del mateix índex. Es podria buscar un nou nom per aquest índex, o sota la base de que la definició del coeficient de correlació intraclasse és anterior abandonar la denominació del coeficient de concordança. Però en realitat el coeficient de correlació intraclasse identifica una família d'índexs, cadascun dels quals es diferencia per les components de la variança implicades, les quals depenen de les assumpcions que es fan sobre el model de mesura. Des d'aquesta perspectiva, el coeficient de concordança denotaria un coeficient de correlació intraclasse en particular. Concretament el coeficient de concordança és aquell coeficient de correlació intraclasse en el que es desitja calcular la concordança entre observadors, els quals són considerats com un efecte fix. Per exemple, si hom volgués considerar la interacció entre els efectes individu i observador, l'expressió del coeficient de correlació intraclasse seria una altra i no coincidiria amb el coeficient de concordança. Per tant, la denominació coeficient de concordança identifica un índex concret dins del genèric Coeficient de Correlació Intraclasse, trobant-se la diferència entre la definició proposada per Lin i el propi coeficient de correlació intraclasse en el mètode d'estimació. En aquest sentit. el mètode d'estimació per components de la variança mitjançant un model lineal mixt s'ha mostrat superior al de moments proposat per Lin (1989), tant en termes de biaix, com de precisió i de cobriment dels intervals de confiança. El resultat del biaix era esperable donat que també ha estat demostrat que l'estimador per moments era esbiaixat. Però aquest no és l'únic avantatge que té l'estimació del coeficient de concordança per components de la variança, donat que amb aquest mètode és possible estimar fàcilment la concordança per més de dos observadors i es pot controlar per possibles variables confussores simplement introduint-les en el model.

En aquest mateix capítol s'ha estudiat el problema d'estimació del coeficient de correlació intraclasse quan la variable en estudi és un recompte. En aquest cas és habitual que la

distribució de les mesures realitzades per cada observador sigui asimètrica amb força valors extrems i amb un patró heteroscedastic. En aquesta situació és habitual que s'apliquin transformacions com el logaritme o l'arrel quadrada per normalitzar la variable i estabilitzar la variança. S'ha presentat com alternativa la utilització d'un model lineal generalitzat mixt (GLMM), assignant una distribució Normal a l'efecte individu, una distribució de Poisson a l'error aleatori o variació intraindividu i utilitzant el logaritme com a funció d'enllaç entre la mitjana de cada individu i els efectes o covariables. En aquest cas l'estimació mitjançant el GLMM s'ha mostrat superior a la del model lineal mixt normal, sobretot ha quedat palès que les transformacions són del tot inadequades si l'estimació es fa mitjançant components de la variança.

Els resultats semblen indicar que la utilització dels GLMM pot ser estesa a altres situacions de recomptes com seria considerar que el residu es distribueix sota una Binomial. Així mateix sembla interessant avaluar la qüestió de la concordança entre recomptes quan s'utilitzen altres procediments alternatius al coeficient de correlació intraclasse però que es troben sota l'assumpció de normalitat de les dades. Entre aquests procediments caldria destacar aquells que es basen probabilitats sobre la diferència entre les mesures a nivell individu com el procediment Bland-Altman o els intervals de tolerància. Aquestes qüestions resten per resoldre en el futur amb més recerca.

Em el capítol 3 s'ha presentat el model d'equació estructural com un procediment útil per avaluar bioequivalència individual. L'objectiu d'aquest capítol ha estat primer identificar la qüestió de la bioequivalència individual com un problema de concordança entre les log-biodisponibilitats dels productes de referència i de testar. Sota aquesta perspectiva, el model d'equació estructural apareix com una tècnica molt interessant perquè permet avaluar la manca de bioequivalència a cada nivell del model de mesura, identificant, en cas de rebutjar la bioequivalència, les causes de la manca de concordança. Esbrinar aquestes causes és molt interessant perquè pot permetre, al fabricant del producte a testar, identificar que és el que ha de millorar per aconseguir que el seu producte sigui bioequivalent respecte el producte de referència. D'altre banda s'ha vist la necessitat de testar l'assumpció de que la recta estructural sigui determinista mitjançant el model d'equació estructural *error-in-equation*. La violació de l'assumpció es tradueix en un biaix que en últim terme porta a la presa incorrecta de decisions.

La bioequivalència individual ha estat abordada des d'un punt de vista teòric, sense entrar a discutir si és realment necessari que un producte sigui bioequivalent en un sentit individual respecte a un ja existent per que pugui estar en el mercat. En aquest sentit la discussió a la

literatura encara es troba vigent, d'aquesta manera Senn (2001) va fer notar que la bioequivalència individual és un problema purament acadèmic. Senn destaca que plantejar-se sobre la intercanviabilitat entre productes no té sentit a la pràctica i és lluny de l'objectiu de l'assaig de bioequivalència, que és garantir que el producte a testar tingui les mateixes característiques de seguretat i eficàcia que el producte de referència. Segons Senn, la bioequivalència poblacional si que respon a aquest punt.

El principal handicap de la bioequivalència individual és la dificultat en demostrar-la. Realment és difícil a la pràctica demostrar que dos productes són completament intercanviables, arribant-se a l'extrem de que un producte no sigui individualment bioequivalent amb ell mateix si té una variabilitat intra-individu gran. El grau de restricció de la bioequivalència individual ha portat a pensar que la bioequivalència poblacional és un tipus de bioequivalència a mig camí entre la bioequivalència en mitjana i la individual. Però aquest raonament és erroni, perquè en realitat tant la bioequivalència en mitjana com la poblacional es refereixen a la distribució marginal de les biodisponibilitats, mentre que la individual està associada a la distribució individual, trobant-se en aquest fet la diferència de restricció. Aquest dualisme entre la distribució marginal i la individual ens porta a la deducció de que tant la bioequivalència poblacional com la individual volen demostrar el mateix, la igualtat de distribucions de probabilitats dels productes, però amb distribucions diferents. En canvi, amb la bioequivalència en mitjana tan sols es vol demostrar la equivalència entre les mitjanes de la distribució marginal. Per tant, per completar el dualisme es podria definir un nou tipus de bioequivalència: la bioequivalència individual en mitjana (*average individual bioequivalence*). El requeriment d'aquest tipus de bioequivalència seria demostrar la igualtat de les mitjanes individuals, és a dir, que els productes tinguin un mateix efecte mig per a un individu concret. Amb aquest tipus de bioequivalència es garanteix un cert grau de seguretat i eficàcia si els productes s'intercanvien, i la seva demostració, en termes del model d'equació estructural, requereix que la recta sigui la bisectriu, ignorant les hipòtesis sobre les variances intra-individu.

En resum, les principals conclusions que es poden extreure d'aquesta tesi són:

1) La fiabilitat i l'intercanvi dels mètodes de mesura és una qüestió important en la pràctica mèdica que té implicacions directes en la presa de decisions.

2) El coeficient de concordança de Lin i el coeficient de correlació intraclasse són dos expressions d'un mateix índex. La diferència entre tots dos es troba arrelat en el mètode d'estimació.

3) Les estimacions per components de la variància del coeficient de concordança són més consistents que les proporcionades pel mètode de moments.

4) El coeficient de concordança és generalitzable pel cas de més de dos mètodes de mesura si s'utilitza el procediment d'estimació per components de la variància.

5) L'estimació per components de la variància permet obtenir estimacions del coeficient de concordança ajustades per variables confusores o modificadores de la mitjana general. Si aquest control no es realitza, el coeficient de concordança és sobreestimat.

6) Quan la variable que s'està analitzant és un recompte sense límit superior, les estimacions del coeficient de concordança obtingudes mitjançant un model lineal generalitzat mixt són més consistent que les proporcionades per un model lineal mixt clàssic.

7) Quan la variable que s'està analitzant és un recompte, les transformacions són innecessàries i desaconsellables si l'estimació del coeficient de concordança es realitza mitjançant components de la variància.

8) El model d'equació estructural és un procediment útil per assajar la bioequivalència individual, permetent a l'usuari identificar les possibles font d'inequivalència.

9) L'assumpció de que la recta estructural sigui determinista pot i ha de ser comprovada mitjançant el model d'equació estructural *error-in-equation*. En cas contrari, les estimacions seran esbiaixades podent-se a arribar a conclusions errònies.

10) Un nou tipus de bioequivalència ha estat proposat: la bioequivalència individual en mitjana.

BIBLIOGRAFIA

Anderson S., Hauck WW (1990). "Consideration of Individual Bioequivalence". *J Pharmacokinet Biopharm.* **18**: 259-274.

Agresti, A. (1992). "Modelling patterns of agreement and disagreement". *Statistical Methods in Medical Research* **1**, 201.218.

Atkinson, G. and Neville, A. (1997). Comment on the use of concordance correlation to assess the agreement between two variables. *Biometrics* **53,** 775-778

Bloch, DA and Kraemer, H. (1989). "2x2 kappa coefficient: measure of agreement or association". *Biometrics* **45**, 269-287.

Cohen, J. (1960). "A coefficient of agreement for nominal scales". *Educational and Psychological Measurements*, **20**, 37-46.

Chen ML. Individual Bioequivalence – A regulatory update. *Journal of Biopharmaceutical Statistics* 1997; **7**(1): 5-11

Dunn, G. (1989). *Design and analysis of reliability studies*. *The statistical evaluation of measurement errors*. New York: Oxford University Press

EMEA (2000). "Note for Guidance on the investigation of bioavailability and bioequivalence". CPMP, EMEA. London, UK.

Esinhart, JD and Chinchilli, VM. (1994). "Extension to the use of tolerance intervals for the assessment of individual bioequivalence". *Journal of the Biopharmaceutical Statistics* **4**, 39-52

FDA. (2001). Guidance for Industry. Statistical Approaches to Establishing Equivalence. CDER, Food and Drug Adm., Rockville, MD.

Fisher, RA. (1925). *Statistical Methods for Research Workers*. Edinburgh:Oliver & Boyd.

Fleiss, JL. (1986). *Design and analysis of clinical experiments*. New York:Wiley.

Galton, F. (1886). "Family likeness in stature". *Proceedings of the Royal Society* **40**, 42-73.

Gould AL (2000). "A practical approach for evaluating population and individual bioequivalence". *Statistics in Medicine* **19**(20): 2721-2740

Holder DJ, Hsuan F. (1993). "Moment-based criteria for determining bioequivalence". *Biometrika,* **80**(4): 835-846

Kirkwood, TBL (1981). "Bioequivalence testing – a need to rethink". *Biometrics* **37**:589-591.

Lin, LI. (1989). "A concordance correlation coefficient to evaluate reproducibility". *Biometrics*. **45**, 255-268.

Lin, LI. (2000). "Total deviation index for measuring individual agreement with applications in laboratory performance and bioequivalence". *Statistics in Medicine* **19**, 255-270.

Pardell H, Marrugat J, Roure E, Carrasco JL, Tresserras R and Salleras L. (2001). "Reliability of automatic devices to assess blood pressure in epidemiological studies". 5th International Conference on Preventive Cardiology, Osaka, Japan

Pearson, K. (1896). "Mathematical contributions to the theory of evolution – III. Regression, heredity and panmixia". *Philosophical Transactions of the Royal Society, Series A* **187**, 253-318.

Schall R., Luus HG (1993). "On Population and Individual Bioequivalence. *Statistics in Medicine* **12**: 1109-1124.

Schuirmann, DJ. (1987). "A comparison of two one-sided tests procedure and the power approach for assessing the equivalence of average bioavailability". *Journal of Pharmacokinetics and Biopharmaceutics* **15**:657-680.

Senn, S. (2001). "Statistical issues in bioequivalence". *Statistics in Medicine* **20**:2785-2799.

Shoukri, MM.(1998). "Measurement of agreement" in Armitage P, Colton T, editors. *Encyclopedia of biostatistics*. chichester:Wiley & Sons, 103-117.

Vuorinen J, Turunen J (1996). "A three-step procedure for assessing bioequivalence in the general mixed model framework". *Statistics in Medicine* **15**(24): 2635-2655

Westlake, WJ. (1972). "The use of confidence intervals in comparative bioavailability trials". *Journal of Pharmaceutical Sciences* **61**: 1340-1341.

Westlake, WJ. (1976). "Symmetrical confidence intervals for bioequivalence trials". *Biometrics* **32**:741-744.