

**COMPARACIÓN DE LA BIODISPONIBILIDAD DE UN PRODUCTO TEST
CONTENIENDO TRIMEBUTINA DE LIBERACIÓN PROLONGADA DE
LABORATORIOS LETI S. A. V., CONTRA LA REFERENCIA DE LABORATORIOS
PFIZER, LUEGO DE ADMINISTRAR UNA DOSIS ÚNICA DE 300 MG EN
VOLUNTARIOS SANOS**

Dr. Hugo Cohen-Sabban¹; Maria Gonzalez Yibirín²

Resumen

Objetivo: El objetivo del estudio es evaluar la biodisponibilidad comparada entre dos formulaciones de liberación prolongada de trimebutina 300 mg, luego de una administración única en voluntarios sanos, a través de la determinación de su metabolito activo la desmetil-trimebutina.

Métodos: Se trata de un estudio abierto, randomizado, balanceado, con control activo, de dosis simple, cruzado, con dos períodos separados por un período de descanso y secuencial, realizado en 12 voluntarios sanos de ambos sexos.

Los voluntarios recibieron de acuerdo al esquema asignado por la aleatorización y en dos períodos, una dosis única por vía oral después de un ayuno de 10 horas, de un comprimido de una formulación conteniendo 300 mg de Trimebutina AP de Laboratorios LETI S.A.V., o del producto de referencia DEBRIDAT AP®, de Laboratorios Pfizer. Después de la última muestra de sangre del primer período hubo un tiempo de lavado de por lo menos siete días, luego del cual los voluntarios que recibieron el producto test en el primer período recibirían el producto de referencia y viceversa.

Las tomas de muestras se realizaron antes de la dosis (tiempo cero), 0.5 h, 1 h, 2 h, 3 h, 4 h, 6 h, 8 h, 10 h, 12 h, 14 h, 18 h, 24 h y 36 h.

El análisis estadístico se realizó utilizando un paquete estadístico del programa Equiv test, empleándose el análisis de la varianza (ANOVA) de los parámetros cinéticos AUC_{0-inf} , $AUC_{0-36 h}$ y C_{max} y la aplicación de los intervalos de confianza para el 90%. En el análisis comparativo se tomaron los intervalos de confianza con el rango de referencia de 0.8-1.25%.

¹ CRO BIO SOLUTION, La Pampa 2730 (1428), Av. Córdoba 2625 5° F, Buenos Aires – Argentina.

² Laboratorios Leti, S.A.V., Guarenas – Venezuela.

Resultados: Para la Trimebutina test los valores fueron: Cmax 1343.49 +/- 585.58, AUC₀₋₃₆ de 8197.19 +/- 3995.23 y AUC_{0-inf} de 8198.36 +/- 3995.3. Para la formulación de referencia los valores fueron de: Cmax 1023.99 +/- 587.57, AUC₀₋₃₆ 7221.15 +/- 3211.97 y AUC_{0-inf} de 7225.97 +/- 3211.62 sin diferencias significativas entre los grupos.

Conclusiones: En este estudio se comprobó que la Cmax y el AUC, sus medias log-transformadas así como sus intervalos de confianza al 90% no se alejan entre sí en menos del 80% ni en más de 125%, por lo cual se consideran bioequivalentes y por lo tanto intercambiables.

Palabras claves: Trimebutina, bioequivalencia, biodisponibilidad.

Summary

Objective: The objective of this study is to assess the comparative bioavailability of two sustained release formulations of trimebutine 300 mg, after a single administration in healthy volunteers, through determination of the active metabolite desmethyl-trimebutine.

Methods: This is an open, randomized, balanced, active-controlled, single dose, crossover study with two periods separated by a rest period and sequentially, conducted in 12 healthy volunteers of both sexes.

Volunteers were assigned according to the randomization scheme and two periods, a single oral dose after fasting for 10 hours, a tablet formulation containing 300 mg of trimebutine AP LETI SAV Laboratories, or product Reference DEBRIDAT AP®, Pfizer Laboratories. After the last blood sample of the first period there will be a wash time of at least seven days, after which the volunteers received the test product in the first period will received the reference product and viceversa.

The sampling is performed: before dosing (time zero), 0.5 h, 1 h, 2 h, 3 h, 4 h, 6 h, 8 h, 10 h, 12 h, 14 h, 18 h, 24 h and 36 h.

Statistical analysis was performed using a statistical package Equiv test program, using analysis of variance (ANOVA) of the kinetic parameters AUC_{0-inf}, AUC_{0-36h} and Cmax and application of confidence intervals for 90%. In the comparative analysis we used the confidence intervals with the reference range of 0.8-1.25%.

Results: For the Trimebutine test values were C_{max} 1343.49 +/- 585.58, AUC_{0-36} of 8197.19 +/- 3995.23 and AUC_{0-inf} 8198.36 +/- 3995.3. For the formulation of reference values were: C_{max} 1023.99 +/- 587.57, AUC_{0-36} 7221.15 +/- 3211.97 y AUC_{0-inf} of 7225.97 +/- 3211.62 no significant differences between groups.

Conclusions: This study found that the C_{max} and AUC, its log-transformed means and confidence intervals 90% away from each other not less than 80% or over 125%, so it is considered bioequivalent and therefore interchangeable.

Keywords: Trimebutine, bioequivalence, bioavailability.

INTRODUCCIÓN

La Trimebutina es un antiespasmódico ampliamente utilizado para el tratamiento de los desórdenes intestinales funcionales. Sus acciones farmacológicas están mediadas por un efecto agonista periférico sobre los receptores kappa y delta de opiáceos. 1, 2, 3, 4, 5, 6

Libera un péptido intestinal conocido como motilina y modula la liberación de otros péptidos incluyendo péptido vasoactivo intestinal, gastrina y glucosa.

Administrado IV y oralmente retrasa la aparición de la fase II, del complejo motor del estómago e induce en el duodeno una fase III prematura migrando a través de todo el intestino.

En el humano estimula la motilidad en estado de ayuno y después de las comidas.

El leve efecto estimulante sobre los receptores μ y K asociado con un bloqueo de los canales de sodio, un bloqueo en la liberación del glutamato y la capacidad anestésica local pueden explicar la efectividad de la trimebutina (TMB) en el dolor abdominal.

La fórmula empírica de la trimebutina es $C_{22}H_{29}NO_5$. Su PM 387.5 C A S 34140-59-5. Clasificación A T C A03AA.

La trimebutina es bien absorbida en el tracto gastrointestinal, con niveles máximos en 1 a 2 h. En estudios realizados en el perro dando dosis marcadas con isótopos radiactivos se observa que tiene un modelo farmacocinético de dos compartimientos, con una vida media de distribución de 0.66 horas, mostrando elevadas cantidades en

las paredes del estómago e intestino, se une escasamente a las proteínas y tiene circulación entero hepática.

El hígado parece ser el mayor sitio de metabolización. Presenta un importante efecto de primer paso hepático, por lo que la droga madre desaparece en poco tiempo del plasma haciendo necesario considerar la dosificación del metabolito activo.

En el humano el compuesto de mayor circulación después de la administración oral de trimebutina (TBM) es la nortrimebutina (Nor-TBM), la cual es similar o más potente que la TBM en la inhibición de los canales de sodio y en la inhibición de la liberación del glutamato.

Una hora después de una administración de 900 mg, cuando la concentración de TBM es máxima la de Nor-TBM es 15 veces más alta (Japanese Pharmacopoeia (JP14) Database Moluron®; Enero, 2000).

En un estudio realizado en voluntarios sanos (N° 24) después de la administración de 100 mg de Trimebutina, la Nor-TBM alcanzó un pico plasmático de 539 +/- 318 ng/mL aproximadamente a las 1.6+/-0.5 h, con un AUC_{0-t} de 2323 +/- 2529 ng/mL/h y AUC_{0-∞} extrapolada de 3592 +/- 5148 ng/mL/h, una vida media Terminal de 6.8 +/- 9 h (Saivin, 2000).

Se excreta por vía renal 70% aproximadamente en 24 h después de una dosis única.^{7, 8, 9}

Sus indicaciones clínicas son el estreñimiento (el papel regulatorio de TMB ha sido demostrado en estudios clínicos, en los cuales en pacientes constipados incrementa el número y longitud de las contracciones, mientras que las decrece en pacientes con diarrea), tratamiento del síndrome del colon irritable, gastritis y vómitos asociados a úlcera gastroduodenal o espasmo del píloro, tratamiento coadyuvante en gastroenteritis infantiles.¹⁰

La posología recomendada en administración oral es:

- Niños menores de 1 año 12 mg/8-12 horas.
- Niños de 1 a 3 años: 24 mg/8-12 horas.
- Niños de 3 a 5 años: 48 mg/8-12 horas.
- Adultos de 200 a 600 mg/día.

La trimebutina es muy bien tolerada, incluso en dosis elevadas siendo escasos los efectos secundarios descritos. La forma inyectable ha ocasionado raras veces hipotensión y se han descrito casos de alergia representados por urticaria y dermatitis de contacto. Otros efectos secundarios son sequedad de boca, diarrea, dispepsia, náusea y constipación que afectan al 3.1% de los pacientes. Sobre el sistema nervioso central se han descrito somnolencia, fatiga y mareos en el 3.3% de los pacientes.

Otros efectos adversos varios, reportados ocasionalmente, han sido problemas menstruales, mastodinia, retención de orina y ligera sordera.

OBJETIVO DEL ESTUDIO

Evaluar en voluntarios sanos la biodisponibilidad comparativa entre dos formulaciones de trimebutina de liberación prolongada, luego de la administración de una dosis única de comprimidos de 300 mg, de una formulación en estudio de Laboratorios LETI S.A.V., contra una de referencia, Debridat AP®, de Laboratorios Pfizer, a través de la determinación de su metabolito activo, la desmetil-trimebutina.

DISEÑO DEL ESTUDIO

Estudio abierto, randomizado, balanceado, con control activo, de dosis única, cruzado, con dos períodos de ensayo, separados por un período de descanso de al menos siete días y administración del producto en ayunas de 10 horas. Consiste en la administración a cada sujeto por vía oral de un comprimido de 300 mg de trimebutina del producto test de Laboratorios LETI y del producto de referencia DEBRIDAT AP®. Se incorporará un número de 12 voluntarios sanos, a forma de estudio piloto con el fin de determinar la variación inter e intraindividual, la que se presume alta de acuerdo a la bibliografía publicada. Se completará luego el número de los 24 voluntarios establecidos para el protocolo. Se deja abierta la posibilidad de ampliación del número de voluntarios a 36 en forma secuencial.

En cada periodo del estudio se obtendrán catorce muestras de sangre: antes de la dosis (tiempo cero) y 0.5 h, 1 h, 2 h, 3 h, 4 h, 6 h, 8 h, 10 h, 12 h, 14 h, 18 h, 24 h y 36 h. luego de la administración del producto.

Finalizado el período de descanso, se realizará el cruce de administración de productos y se volverán a obtener muestras de sangre en los tiempos antes mencionados.

Solo se incluyeron voluntarios que hubiesen firmado el consentimiento informado antes de ingresar en el estudio, sujetos adultos sanos con edades entre 21 y 55 años de ambos sexos, con un índice de masa corporal entre 18 y 27 Kg/m², ambos inclusive. En los cuales las evaluaciones médicas y los análisis de laboratorio (bioquímica, hematología, y de orina) no tuvieran alteraciones clínicas significativas. Serología negativa para HIV, hepatitis B, C, y sífilis (o hasta ½ con antecedentes que lo justifique). Con ausencia de antecedentes para ingesta de alcohol y drogas de abuso y alta probabilidad de cumplimiento de los procedimientos establecidos en el protocolo: ingesta de los comprimidos, obtención de las muestras de sangre, visitas de seguimiento y requerimientos adicionales para llevar a cabo el estudio.

No se incluyeron pacientes con hipersensibilidad conocida al medicamento administrado o a los materiales utilizados, pacientes con condición o antecedente que, de acuerdo al criterio del Investigador Médico, pueda ser considerado como factor de riesgo para la administración de TRIMEBUTINA o pueda alterar la farmacocinética de dicho principio activo. Voluntarios que hubiesen participado en un ensayo clínico previo en las doce semanas previas, voluntarios que hayan recibido algún tipo de medicación dentro de las 4 semanas previas al inicio del estudio sin autorización del médico investigador.

Sujeto fumador de más de 10 cigarrillos por día, sujeto que haya sido dador de sangre dentro de los dos meses previos al inicio del estudio, embarazo o lactancia.

La evaluación inicial se realizó dentro de los 30 días previos a la primera administración de las formulaciones de trimebutina. Consistió en examen clínico completo, hematología: recuento de glóbulos rojos, hematocrito, hemoglobina, recuento de glóbulos blancos, recuento de plaquetas, VCM, HCM, CHCM, fórmula leucocitaria y eritrosedimentación. Bioquímica: urea, creatinina, glucosa, AST, ALT, colesterol, bilirrubina total, bilirrubina directa, proteinemia total. Serología: anti-HIV, HbsAg, anti-HCV y VDRL. Test de embarazo a las mujeres fértiles. Análisis de orina: pH, densidad,

proteína, glucosa, cetonas, pigmentos y sales biliares, urobilinógeno, hemoglobina, leucocitos, ECG y radiografía de tórax

Durante los días 2 a 7 los voluntarios realizaron una vida normal evitando excesos alimentarios y de actividad física.

Cualquier medicación recibida por el sujeto durante el transcurso del estudio fue registrada en el libro de CRF.

Durante el día 1 del estudio, se obtuvo una muestra de sangre antes de la toma del producto; luego los voluntarios recibieron en ayunas con aproximadamente 200 ml de agua, una dosis única por vía oral de un comprimido de 300 mg de trimebutina, de la formulación de laboratorios LETI o de DEBRIDAT AP®, de acuerdo al producto asignado por aleatorización.

En cada período se obtuvieron muestras de sangre: antes de la dosis (tiempo cero) y a 0.5 h, 1 h, 2 h, 3 h, 4 h, 6 h, 8 h, 10 h, 12 h, 14 h, 18 h, 24 h y 36 h luego de la administración de cada producto.

A los sujetos se les permitió ingerir alimentos después de dos horas luego de la administración de los comprimidos de TRIMEBUTINA.

Luego de finalizado el período de lavado, los voluntarios que recibieron la formulación test, de Laboratorios LETI durante el primer período, cambiarán y recibirán DEBRIDAT AP® como tratamiento para el segundo período, y viceversa. Se cumplirá nuevamente con los requisitos establecidos en el período anterior.

En cada visita, se les preguntará a los sujetos si han experimentado algún evento adverso.

El grado de los eventos observados será clasificado utilizando la siguiente escala.

1. *Leve*: es molesto, pero no requiere atención médica y no limita las actividades diarias.
2. *Moderado*: es tolerable, pero requiere atención médica y limita parcialmente las actividades diarias.
3. *Severo*: es intolerable, requiere atención médica y/o suspensión del tratamiento y limita completamente las actividades diarias.

4. *Serio* : Causa la muerte, o requiere hospitalización del sujeto, porque el evento puede ser o no una amenaza vital (ver ítem correspondiente)

La analítica fue realizada por el Laboratorio Dr. Schere determinando el contenido de DESMETIL-TRIMEBUTINA de todas las muestras obtenidas durante el estudio. Se utilizó un método de cromatografía líquida de alta presión acoplado a espectrometría de ultra violeta, específico, sensitivo y validado.

Para el análisis de biodisponibilidad de las dos formulaciones, la variable principal fue el área bajo la curva (AUC) calculada a partir de las concentraciones plasmáticas de desmetil-trimebutina. En el análisis cinético se consideraron el AUC_{0-36} hs y el AUC_{0-inf} . También se analizó la concentración máxima (C_{max}).

El análisis farmacocinético se realizó empleando el programa estadístico Excel.

El AUC_{0-inf} se calculó mediante la suma de dos AUC parciales: a) AUC_{0-t} abarcando todos los tiempos de muestreo y calculada mediante la regla trapezoidal, y b) AUC_{0-inf} , que representa la exposición total a la droga extrapolada a infinito; calculada como la suma del AUC_{0-t} , y el cociente C/K , siendo C la última concentración detectable y K la pendiente de la recta obtenida mediante regresión lineal a partir de los puntos correspondientes a la fase de eliminación del fármaco.

Los resultados globales farmacocinéticos descriptivos son expresados como la media (\pm desviación estándar) o mediana. La estadística descriptiva fue realizada de acuerdo a las disposiciones vigentes.

Para el análisis de bioequivalencia de los dos preparados de trimebutina se utilizó el paquete estadístico anteriormente descrito empleándose el análisis de la varianza (ANOVA) de los parámetros cinéticos AUC_{0-inf} , AUC_{0-36} h y C_{max} y la aplicación de los intervalos de confianza para el 90%. En este ANOVA se tienen en cuenta 4 factores: la secuencia, los sujetos, el período y la formulación. El AUC_{0-inf} , AUC_{0-36} h y C_{max} se analizaron previa transformación logarítmica de los datos. Se obtuvo la estadística comparativa (promedio, desviación estándar, error estándar del promedio aritmético y límites de confianza del promedio aritmético) de todos los datos obtenidos.

El nivel de significación aceptado para el error tipo I en las comparaciones fue del 5%.

En el marco de este estudio son definidos como “outliers” a aquellos datos de uno o más medidas de biodisponibilidad que son discordantes con los correspondientes datos para ese sujeto o para el resto de los sujetos del estudio. Aquellos datos que se encuentren en esa situación podrán ser eliminados de la consideración estadística de las variables farmacocinéticas cuando se justifique dicha acción.

Los datos referentes a seguridad serán considerados en el 100% de los casos.

La biodisponibilidad comparativa entre las formulaciones de trimebutina ensayadas en el presente estudio fue evaluada de la siguiente manera:

- Establecer el intervalo de confianza al 90% de AUC test /AUC referencia.
- Establecer el intervalo de confianza al 90% de Cmax test / Cmax referencia.

Tanto las AUC como Cmax individuales fueron transformadas logarítmicamente antes de iniciar los cálculos.

Se efectuó un test de ANOVA identificando las fuentes de variación: sujeto, período y tratamiento, utilizando el cuadrado medio del error resultante como estimador de la varianza para el cálculo del intervalo de confianza al 90 %, obteniendo luego el antilogaritmo de los dos valores resultantes (límite inferior y superior del intervalo de confianza al 90%).

Se compararon los intervalos de confianza con el rango de referencia de 0.8 – 1.25 % establecido como criterio de bioequivalencia para productos farmacéuticos: el intervalo de confianza de Cmax, AUC_{0-inf} y AUC_{0-t} deberá estar incluido en dicho rango par declarar ambos productos como bioequivalentes.

Este estudio fue llevado a cabo siguiendo los lineamientos de la última versión de la Declaración de Helsinki y la Guía Internacional para Investigación Biomédica Involucrando Individuos Humanos, editada por el Consejo de Organizaciones de Ciencias Médicas (CIOMS, en sus siglas en inglés), la Conferencia Internacional de Armonización (1996, cuya siglas en Ingles son ICH) y la Disposición 5330/97 de la ANMAT.

RESULTADOS

El voluntario número uno fue eliminado del análisis al ser considerado o definido como “outliers.

Gráfico N° 1: Niveles plasmáticos de Desmetil-trimebutina

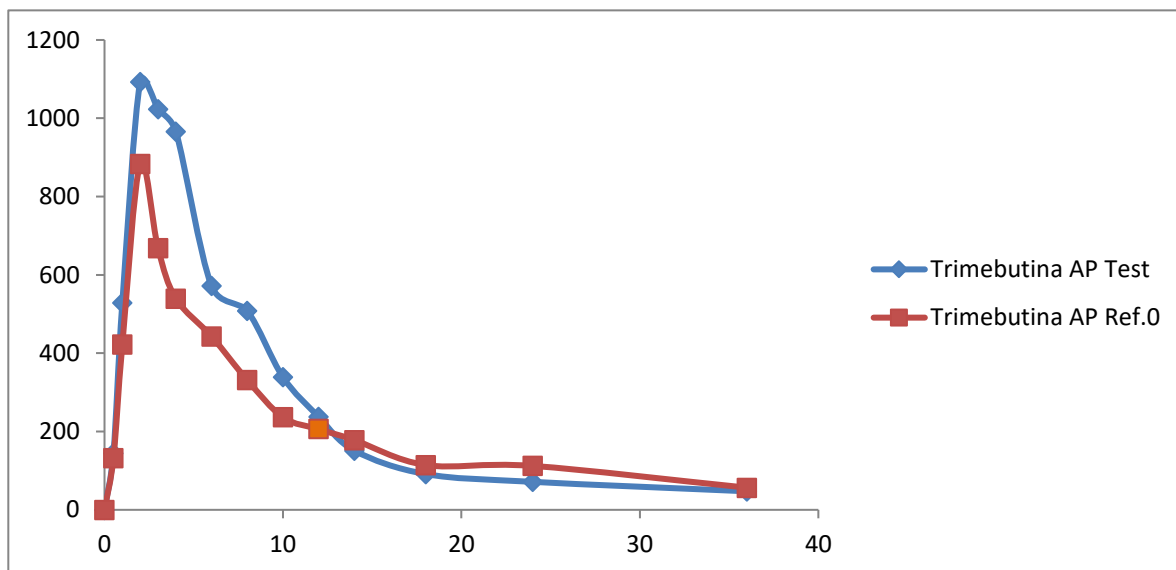


Tabla N° 1: Variables farmacocinéticas

Medias /SD	Cmax	AUC₀₋₃₆	AUC_{0-inf}
Trimebutina Test	1343.49+/-585.58	8197.19+/-3995.23	81.98.36+/-3995.3
Trimebutina Ref.	1023.99+/-587.57	7221.15+/-3211.97	7225.97+/-3211.62
P	0.21	0.53	0.62
CV	0.30	0.36	0.36

Tabla N° 2: Valores individuales

Voluntario	Cmax		AUC ₀₋₃₆		AUC _{0-inf}	
2	557,53	822,95	3040,84	4075,91	3041,77	4077,36
3	1285,08	1332,66	9917,54	7270,81	9918,42	7272,54
4	1506,85	710,56	12599,8	7572,87	12605,78	7586,63
5	774	872,88	4368,35	4854,99	4369,57	4863,25
6	1611,75	1683,00	14193,17	9207,18	14193,82	9209,24
7	1721,78	523,08	6316,84	3819,87	6317,93	3824,64
8	2310,42	2342,59	13880,72	11577,23	13881,18	11577,80
9	390,94	402,99	3809,92	3053,22	3813,71	3058,29
10	1797,20	1223,88	6972,38	12101,36	6973,39	12106,06
11	1107,76	449,56	6392	10274,68	6393,06	10281,76
12	1715,08	899,76	8677,56	5624,49	8678,45	5628,13
Medias	1343,49	1023,99	8197,19	7221,15	8198,82	7225,97
SD	585,58	587,51	3995,23	3211,97	3995,31	3211,62

Tabla N° 3**Demostración de bioequivalencia datos log-transformados**

	Cmax	AUC ₀₋₃₆	AUC _{0-inf}
Medias	104.34 %	101.21 %	101.20 %
CI 90%	103.31-105.55 %	100.31-102.10 %	100.30-102.10 %

DISCUSIÓN

Se han realizado y publicado pocos estudios farmacocinéticos y de bioequivalencia con la Trimebutina, especialmente con las formas de liberación modificada.

El “cumplimiento de los regímenes terapéuticos” es un problema bastante antiguo; Hipócrates, un observador minucioso de la naturaleza humana, parece haber

sido el primero en advertir a los médicos para que estuvieran atentos al hecho de que los pacientes dejan a menudo de tomar los medicamentos.

Sin embargo, de estos estudios emerge un patrón, cuando se analiza el conjunto total de informaciones obtenidas, que indica que, por término medio, 50% de los pacientes no sigue correctamente las instrucciones médicas. ^{11, 12, 13.}

Es preciso estar seguro de que el régimen prescrito es suficientemente eficaz, cómodo en su administración y accesible a la economía del paciente. La aparición de nuevos productos a base de la misma droga del innovador ha permitido tener mayor accesibilidad a los medicamentos al disminuir sus costos. Sin embargo, estos medicamentos deben comprobar que se absorben a la misma velocidad y en la misma cantidad que el medicamento innovador, o sea deben comprobar bioequivalencia.

En este estudio se comprobó que la C_{max} , la cual mide la velocidad con la cual el principio activo es absorbido, y el AUC que mide la cantidad de droga absorbida, sus medias log-transformadas así como sus intervalos de confianza al 90% no se alejan entre sí en menos del 80 % ni en más de 125 %, por lo tanto se consideran bioequivalentes e intercambiables.

BIBLIOGRAFÍA

1. Delvaux M.; Wingate D. Trimebutine. Mechanism of action, effects on gastrointestinal function and clinical results. *J. Int. Med. Res.* 1977; 25(5): 225-46
2. Francois R.; Sandrine L.; Jacques H. et al. Pharmacological Properties of Trimebutina and N- Monodesmethyltrimebutine. *Pharmacology and Experimental Therapeutics.* 1999, Issue 3, (289):1391-1397.
3. Chevalier E.; Petoux F.; Chovet M. et al. Beneficial effect of trimebutine and N-monodesmethyl trimebutine on trinitrobenzene sulfonic acid-induced colitis in rats. *Life Sci.* 2004; 76(3): 319-29.
4. Uchida M.; Iwata T.; Takagi S. Effect of trimebutine maleate on the contractile response of the isolated ileum from diabetic rats. 1994; 25(3):505-8.
5. Pascaud X.; Petoux F.; Roman F. et al. Mode of action of trimebutine: involvement of opioid receptors. *Press Med.* 1989; 18(6): 298-302
6. Bueno L.; Honde C.; Pacaud X.; et al. Effects of orally vs parenterally administered trimebutine on gastrointestinal and colonic motility in dogs. *Gastroenterol. Clin. Biol.* 1987; 11(3 Pt 2):90B-93B.
7. Miura Y.; Chishima S. and S. Takeyama. Studies of metabolic pathways of trimebutine by simultaneous administration of trimebutine and its deuterium-labeled metabolite.
8. Japanese Pharmacopoeia (JP14) Database, Fourteenth Edition JP14. jp14@nihs.go.jp
9. Saivin S., Lavit M., Michel F., Labaune P., Martin A., Cahiez G., Donazzolo C., Chomard J., Houin G. Pharmacokinetics and Bioequivalence of Two Trimebutine Formulations in Healthy Volunteers Using Desmethyl-trimebutine Levels. *Arzneim-Forsch/Drugg Res* 2000. 50(II):717-721
10. Kountouras J.; Chatzopoulos D.; Zavos C.; et al. Efficacy of trimebutine therapy in patients with gastroesophageal reflux disease and irritable bowel syndrome. *Hepatogastroenterology.* 2002; 49(43): 193-7.
11. Homedes, N. & Ugalde, A. ¿Qué sabemos de los tratamientos médicos en el tercer mundo?. *Bol. Ofic. Sanit. Panam.* Vol. 116, N° 6, p. 491-516, 1994.

12. Eraker, S.A., Kirscht, J.P. & Becker, M.H. Understanding and improving patient compliance. *Ann. Intern. Med.* Vol. 100, p. 258-68, 1984.
13. Sackett, D.L., Haynes, R.B., Guyatt, G.H. & Tugwell, P. Helping patients follow the treatment you prescribe. In: *Clinical Epidemiology: a basic science for clinical medicine*. 2. ed. Boston. Little Brown, 1991. p. 249-81.