

Estudios de bioequivalencia: principales metodologías para el diseño

Enrique Aragón, Luis Ayala, Stefani Campos

Unidad de Investigación Clínica

Dirección Nacional de Medicamentos

✉ revistadnm@medicamentos.gob.sv

Enfoque regulatorio

Recibido:

09 de enero de 2024

Aceptado:

09 de febrero de 2024

Publicado:

01 de julio de 2024

Resumen

El objetivo de los estudios de bioequivalencia es demostrar que dos formulaciones con el mismo principio activo poseen un perfil farmacocinético tan similar, que pueda asumirse que se comportarán de la misma forma que el producto de referencia, asegurando su equivalencia farmacológica y terapéutica, permitiendo incluso intercambiarse.

Con este artículo de enfoque regulatorio se busca proporcionar las bases generales sobre los tipos de diseño de los estudios de bioequivalencia, así como sus ventajas y limitaciones.

En El Salvador, el ente encargado de la autorización y vigilancia de los ensayos clínicos y los establecimientos donde se ejecutan, es la Dirección Nacional de Medicamentos.

Palabras clave: Bioequivalencia, diseño, sujetos sanos, medicamento de prueba y medicamento de referencia, medicamento genérico.

Introducción

La proporción de disponibilidad de un fármaco en su sitio de acción se conoce como biodisponibilidad (Villar, 2012).

La bioequivalencia es la ausencia de diferencias significativas en la biodisponibilidad de un fármaco

posterior a su dosificación, en comparación con su producto de referencia, esto permite justificar el no realizar nuevos ensayos clínicos, complejos y costosos, bajo el principio de que, si se administra en un mismo sujeto una especialidad genérica y su referencia, conteniendo el mismo principio activo, su cinética de absorción y distribución en sangre deberá ser tal que su concentración en el sitio de acción sea muy semejante, y, por ende, su actividad terapéutica sea también similar.

Esto se prueba midiendo la concentración en sangre del activo a determinados intervalos, en distintos sujetos, para determinar la similaridad del comportamiento farmacocinético y establecer la bioequivalencia entre ambas formulaciones.

Por lo general, un producto se considera bioequivalente cuando el intervalo de confianza del 90 % para la C_{max} y AUC del genérico contra la referencia en datos transformados logarítmicamente está dentro del 80 %-125 % (Laosa & al, 2009).

El aporte social de este proceso radica en su potencial para facilitar el acceso a productos de calidad y la optimización de recursos del sistema de salud.

Antecedentes

La Organización Mundial de la Salud (OMS), promueve el uso de estándares internacionales para la evaluación de calidad de medicamentos, conformando comités de expertos como el Grupo de Trabajo en Bioequivalencia (GT/BE), que

desarrolla guías de consulta sobre bioequivalencia actualizadas al compás de los avances farmacéuticos y tecnológicos. Los países miembros, las adaptan según sus circunstancias particulares, o bien han sido partícipes en los grupos regionales de armonización. Dicho organismo también ha establecido pautas para la evaluación de calidad, materias primas, etiquetado, perfil toxicológico, farmacológicos e intercambiabilidad de fármacos genéricos, siendo requisito el estudio de bioequivalencia. Dados los desafíos éticos y metodológicos que suponen, así como la necesidad de utilizar personal altamente capacitado, son más costosos, por lo que su aplicación gradual es recomendable, de acuerdo a las posibilidades de cada país, así como la priorización según evaluación de riesgo sanitario (Giarovich, 1997). Así mismo, las autoridades regulatorias deberán velar porque se respeten los códigos éticos internacionales y la prevalencia de los derechos de los individuos sobre los intereses de la ciencia, además del cumplimiento de las normas de Buenas Prácticas Clínicas y Buenas Prácticas de Laboratorio para asegurar la fiabilidad y veracidad de los datos resultantes (Montpart & Martín, 2002).

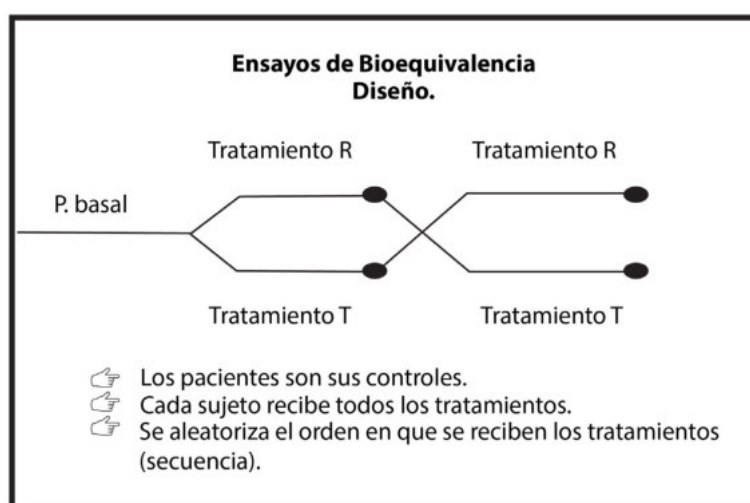
Diseños Metodológicos

Según la Disposición 5040/2006 de la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica, de Argentina (ANMAT, 2006), los estudios de bioequivalencia requieren del aporte multidisciplinario de expertos en materia regulatoria, farmacocinética y estadística. Durante el estudio, se administran dos productos: T (producto de prueba) y R (producto de referencia), de modo que los diseños comunes de estudios de bioequivalencia incluyen diseños paralelos y cruzados.

En un estudio de bioequivalencia una vez planteado el objetivo, se debe planificar la metodología y protocolo del estudio, perfil del sujeto, dosis, tiempos de muestreo, parámetros, métodos de análisis de las muestras biológicas y análisis e interpretación de resultados. Entre los tipos de diseño cabe mencionar:

Diseño cruzado: Los participantes son asignados aleatoriamente a las formulaciones de tratamiento o control a compararse, siguiendo la secuencia de dosificación establecida. En este tipo de diseño comparativo cada individuo es su propio control, disminuyéndose la variabilidad interindividual y, dada la aleatorización de las secuencias de dosificación administradas, es posible detectar mejor las diferencias o similitudes de la biodisponibilidad. Posterior a la primera administración según la secuencia de aleatorización, se deja un período de lavado adecuado para asegurar que el fármaco administrado y sus metabolitos se han eliminado totalmente. Este período de lavado comprende 5 o más vidas medias del fármaco. Para controlar las variables que afecten la absorción y disponibilidad, el diseño también requiere de la estandarización de hábitos y estilo de vida de los sujetos, como: ingesta de líquidos, reposo, alimentación, tiempo entre cada extracción sanguínea (Ver Figura 1).

Figura 1. Esquema de diseño cruzado

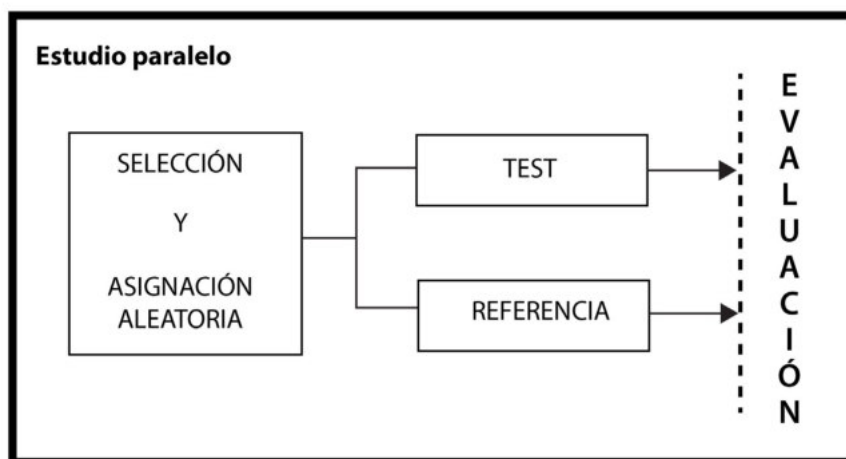


Fuente: Laosa, & al; 2009

Diseños alternativos: Algunos medicamentos pueden provocar efectos indeseables o inaceptables para los participantes, o requieren del uso de dosis elevadas, en estos casos puede ser útil el uso de un diseño paralelo (ver Figura 2). Dichos diseños deberán justificarse por parte del patrocinador, quien deberá inscribir a voluntarios con condiciones estables.

Similarmemente, si deben evaluarse entidades con vida media prolongada (> 24 horas), donde un diseño cruzado resulta problemático, puede recurrirse a un diseño de grupos paralelos. En estos diseños los tiempos de recolección de las muestras debe ser apropiados para permitir el tránsito gastrointestinal completo (entre 2 y 3 días). La recolección de muestras sanguíneas se extenderá hasta las 72 horas. Por lo que, en este tipo de estudios, en general, se requiere mayor número de voluntarios, y, en algunas ocasiones, de acuerdo a las características del principio activo (razones de seguridad), deben realizarse en pacientes.

Figura 2. Esquema de diseño paralelo



Fuente: Disposición 5040/2006; (ANMAT, 2006)

Para otros fármacos con "alta variabilidad farmacocinética", aquellas cuyo Coeficiente de Variación Intraindividual (%) es igual o mayor al 30%, se recomienda la aplicación de un diseño cruzado replicado de dos secuencias (TR/RT) y cuatro períodos (Ej: Secuencia 1: RTTR; Secuencia 2 TRRT), ver Figura 3

Figura 3. Diseño cruzado replicado

		PERIODO			
		1	2	3	4
SECUENCIA	1	E	R	E	R
	2	R	E	R	E

Fuente: GUÍA TÉCNICA G-BIOF 01, Instituto de Salud Pública de Chile, (ISP; 2007)

En ciertas situaciones pueden considerarse más apropiados los estudios cruzados de dosis múltiples, como cuando el principio activo evaluado es muy potente y/o tóxico como para administrarse a voluntarios sanos, aún en dosis única. Tales estudios pueden basar su evaluación en parámetros

farmacocinéticos o farmacodinámicos, aunque puede que este último requiera de más pacientes.

El régimen de dosificación empleado deberá seguir las recomendaciones normales de dosificación. Para formulaciones de liberación modificada, se prefieren diseños de dosis única, debido a la sensibilidad de estos para detectar la liberación del principio activo desde la forma farmacéutica a la circulación sistémica.

Es conocido que los alimentos pueden alterar la absorción de fármacos, por lo que este se considera un aspecto crítico para la evaluación de los medicamentos, por lo que debe estudiarse su impacto; no obstante, los criterios de aceptación de bioequivalencia son esencialmente los mismos para los productos de liberación simple.

Participantes

Los criterios de selección de los sujetos en los estudios de bioequivalencia tienen como objetivo reducir la variabilidad aportada por las características demográficas y antropométricas de los sujetos o por situaciones patológicas, de manera que si aparecen diferencias relevantes en el comportamiento farmacocinético de los medicamentos estudiados éstas no puedan ser atribuidas a la heterogeneidad de los sujetos, sino al comportamiento de los fármacos (Committee for proprietary Medicinal Products, 2001).

Por ello, deben incorporarse voluntarios sanos, de ambos sexos, peso normal o índice de masa corporal adecuado, de 18 a 55 años, no fumadores ni bebedores, ni otras condiciones que puedan aumentar el riesgo de sesgo que dificulte la interpretación de resultados.

Además, los voluntarios deben ser capaces de comprender y cumplir el protocolo, así como firmar el consentimiento.

La regulación internacional aconseja que los participantes de investigación sean parte de un solo estudio a la vez, cada 3 meses, por razones de seguridad y las posibles interacciones medicamentosas, así mismo, al volumen sanguíneo extraído para las muestras plasmáticas, lo cual podría no ser tan importante en un estudio 2x2, pero sí

en otro tipo de diseño que requiera de un volumen sanguíneo mayor.

Además, deberá establecerse por protocolo, la inscripción de un número extra de sujetos por encima de las cantidades requeridas según el cálculo del tamaño de muestra, dadas las posibles pérdidas o retiros que ocurriesen durante el desarrollo del estudio, y que no siempre es recomendable realizar reemplazos, pues puede complicarse el modelo y análisis estadístico.

No obstante, las razones del retiro de sujetos deben ser informadas. Si aun así se desea reemplazar las pérdidas durante el estudio, deberá indicarse esta intención en el protocolo (ANMAT, 2006).

Selección de dosis

De acuerdo a Laosa, & al. (2009), debe evaluarse en atención a 3 aspectos básicos, de manera simultánea:

- ¿Es la dosis suficientemente segura?
- ¿El método analítico utilizado para la cuantificación tendrá la suficiente sensibilidad a la concentración elegida del fármaco?
- La dosis seleccionada, ¿será la más sensible para la detección de diferencias relevantes en las características farmacocinéticas?

Deben seleccionarse dosis comprendidas dentro del rango de las dosis del fármaco de referencia autorizadas para su comercialización.

Efecto de los alimentos en la Bioequivalencia

Sobre este aspecto, según Laosa, & al. (2009) y OPS (2005), los sujetos que participan de un estudio de bioequivalencia, mientras dure el estudio, deben recibir la misma dieta, pues algunos alimentos y bebidas tienen la capacidad de interferir en el proceso metabólico de los medicamentos y por tanto, modifican su comportamiento farmacocinético, así como su biodisponibilidad, por lo que se estandariza la dieta y se restringe el consumo de bebidas alcohólicas o alimentos que contengan xantinas y drogas de abuso, en algunos casos, se prefiere participantes en condición de ayuno.

Algunos Esta modificación de la biodisponibilidad puede deberse a distintos mecanismos (Center for Drug Evaluation and Research (CDER), 2002), entre estos:

- Retraso del vaciamiento gástrico
- Estimulo del flujo biliar
- Cambio del pH gastrointestinal
- Aumento del flujo sanguíneo esplénico
- Cambio del metabolismo luminal del fármaco
- Interacción física o química con una forma farmacéutica o una sustancia medicamentosa

Según estudios, la influencia de los alimentos en la biodisponibilidad suele ser mayor cuando el medicamento es administrado posterior a la alimentación, especialmente si se consume una dieta alta en calorías totales y grasas, pues se altera la fisiología gastrointestinal y, por tanto, la biodisponibilidad de los productos farmacéuticos en estudio.

En principios activos clase I, según el sistema de clasificación biofarmacéutica (SCB), en formulaciones de liberación inmediata, con disolución rápida, es menor la probabilidad de que se presenten efectos sobre la biodisponibilidad, debido a que estas sustancias son altamente solubles y altamente permeables, siendo por tanto la absorción independiente del pH y del sitio.

Períodos de lavado

El periodo de lavado debe ser suficiente para eliminar totalmente la dosis anterior de la circulación sistémica, dicho periodo debe ser igual para todos los sujetos, la literatura recomienda más de cinco veces la vida media del principio activo (ISP, 2007). Según la naturaleza del principio activo, podría ser mayor el tiempo de lavado, en los casos que los metabolitos activos tienen vidas medias prolongadas o si la velocidad de eliminación del fármaco presenta alta variabilidad intersujeto (Agencia Nacional de Regulación, Control y Vigilancia Sanitaria (ARCSA), Ecuador, 2018).

Cuando el fármaco presenta alta variabilidad intersujeto, es necesario considerar un periodo de lavado más largo, de forma que los sujetos con tasas de eliminación bajas puedan eliminar el fármaco. Previo a la administración

del medicamento en el segundo periodo, es necesario verificar la concentración en sangre del principio activo o sus metabolitos.

El periodo mínimo de lavado debe ser de siete días, a menos que se justifique un período más corto si el principio activo tiene una vida media corta (ARCSA, 2018).

Tiempos de muestreo

Cuando las muestras biológicas corresponden a sangre deben tomarse con una frecuencia suficiente que permita evaluar adecuadamente C_{max} (concentración máxima), el área bajo la curva y otros parámetros farmacocinéticos. Los puntos experimentales de muestreo deben incluir una muestra pre dosis, al menos 1 o dos puntos antes de C_{max} , 2 puntos alrededor de C_{max} , y 3-4 puntos durante la fase de eliminación (ISP, 2007).

Considerando al menos 7 puntos de muestreo para la medición de los parámetros farmacocinéticos. Para algunos fármacos se requiere un número mayor de muestras y así reducir posibles diferencias entre los participantes en la velocidad de absorción y de eliminación y de esta manera determinar la concentración máxima del medicamento en sangre y la constante de velocidad de eliminación en todos los sujetos. Es recomendable que se continúe con el muestreo de tal forma que el 80% del área bajo la curva sea cuantificado, sin exceder las 72 horas, el tiempo depende de la naturaleza del medicamento administrado (ISP, 2007).

Fluido de muestreo y colección

Las concentraciones de los medicamentos generalmente se evalúan realizando muestreo de fluidos biológicos, la sangre es el fluido biológico utilizado con mayor frecuencia, ya que los metabolitos o el fármaco son medidos en el suero o plasma.

También se puede realizar muestreo de otros fluidos biológicos como la orina, si el medicamento es eliminado sin cambios por la vía renal, sin embargo, el uso de dicho fluido presenta la desventaja que no se puede calcular el $T_{máx}$ (tiempo máximo), y la concentración máxima (CECMED,s.f).

Es recomendable que la muestra se analice en el centro donde se recolecta y, si es posible, inmediatamente, las muestras deben ser suficientes para calcular todos los parámetros farmacocinéticos. En el caso de muestras de sangre se requiere que las condiciones de almacenamiento sean controladas para evitar la degradación del analito (ISP, 2007).

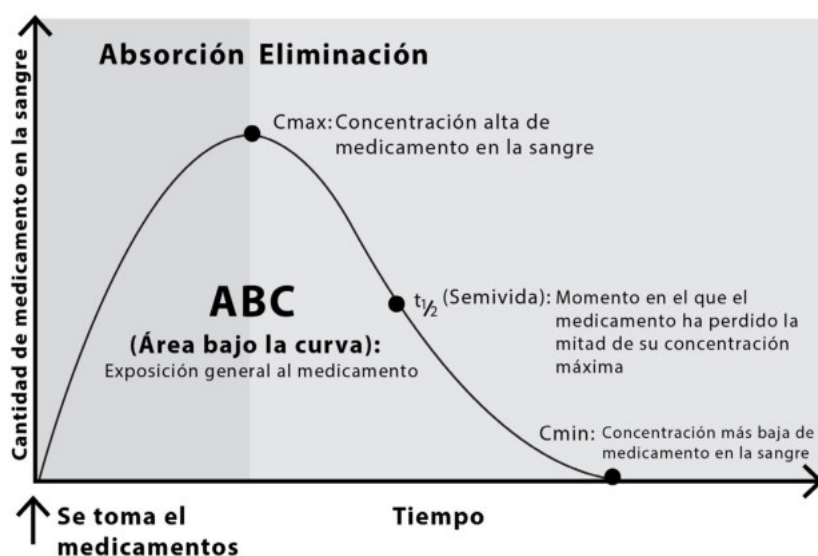
Análisis Farmacocinético

Luego de la administración de los medicamentos de prueba y referencia, deberá cuantificarse la concentración plasmática de cada formulación y sus cambios en distintos puntos a lo largo de un período definido, para lo cual se extraerán muestras de sangre mediante punción venosa; no obstante, deberá procurarse que sean las mínimas necesarias para reducir la incomodidad causada en los participantes. Es de rigor la validación de los métodos analíticos, debiendo ser precisos, sensibles, específicos, así como reproducibles, con el fin de que los resultados sean confiables y correspondan al analito que se requiere medir.

Agencias regulatorias de medicamentos recomiendan los siguientes parámetros farmacocinéticos para los estudios de bioequivalencia.

Área Bajo la Curva (ABC o AUC) concentración-tiempo (ver Figura 4), la cual se puede medir desde el momento en el que se realiza la administración del fármaco hasta la última muestra que se puede cuantificar en el tiempo, pudiendo extrapolar la concentración hasta cero. El cálculo se realiza prolongando la recta de eliminación, debiendo no ser superior al 20% del área bajo la curva. Cabe destacar que la UAC representa la cantidad del medicamento biodisponible, así mismo, los parámetros concentración máxima (C_{max}) y el tiempo máximo (T_{max}) miden la velocidad con la que el medicamento es utilizado por el organismo (Laosa & al, 2009).

Figura 4. Área bajo la curva (AUC); Concentración vs. Tiempo Farmacocinética



Fuente: Clínica info Departamento de Salud y Servicios Humanos Estados Unidos

La vida media de eliminación es útil para comparar los perfiles cinéticos entre las formulaciones, comprobar la existencia de concordancia con lo descrito en la literatura y valorar si el periodo de lavado ha sido suficiente. El AUC y la C_{max} son los parámetros primarios para evaluar bioequivalencia, y la T_{max} y la vida media constituyen los parámetros secundarios (Laosa & al, 2009).

Análisis Estadístico

Para las agencias reguladoras de medicamentos una de las preocupaciones comunes es la aceptación de un producto como bioequivalente cuando en realidad no lo es, es por ello que recomiendan utilizar procedimientos estadísticos donde el riesgo no excede el 5% aceptable (error alfa de 0.05), de tal forma que la probabilidad de concluir que dos formulaciones son bioequivalentes cuando no lo son, es únicamente del 5%. (Laosa & al, 2009)

Es importante mencionar que la evaluación estadística con la que se evalúa los estudios de bioequivalencia se argumenta en intervalos de confianza de biodisponibilidad relativa. Dos productos farmacéuticos se considerarán bioequivalentes en velocidad y magnitud si la "amplitud de la diferencia entre las variables respectivas, es menor o igual al 20%" (Sigler, 1999).

Centro de Investigación de Bioequivalencia

Son todos los centros donde se realizan estudios de bioequivalencia, los cuales pueden ser instituciones privadas, públicas o permanecer dentro de las instalaciones de un hospital, debiendo cumplir con las buenas prácticas aplicables, así como con los requisitos básicos de infraestructura, personal con la suficiente competencia técnica, equipo, instrumentos y materiales, sistema de gestión de calidad, almacenamiento y transporte de muestras biológicas, almacenamiento del medicamento de prueba y referencia, entre otras disposiciones legales y regulatorias que deben cumplir para el correcto funcionamiento (Organismo Salvadoreño de Reglamentación Técnica (OSARTEC), 2023).

La Unidad Clínica es aquella donde se llevan a cabo los estudios de bioequivalencia. Deben contar con los servicios médicos necesarios que les permita atender los participantes de manera oportuna en caso de una emergencia, idealmente la unidad clínica debería contar con una Unidad de Cuidados Intensivos (UCI) o al menos con transporte especializado para el traslado de sujetos a centros hospitalarios (ANMAT, 2006), en los casos que lo amerite. En El Salvador, las clínicas y hospitales,

tanto públicos como privados, que ofrezcan servicios para realizar las actividades relacionadas al estudio de bioequivalencia deben inscribirse ante la Dirección Nacional de Medicamentos, DNM, bajo la figura de "Centro de investigación", debiendo cumplir con los requisitos descritos en la "Guía para la apertura de establecimientos regulados por la DNM".

Conclusión

Los estudios de bioequivalencia son una herramienta importante para los sistemas de salud pública, ya que son ensayos clínicos que se utilizan para demostrar que un producto farmacéutico es seguro, eficaz y de calidad, al ser equivalente al producto innovador. De ahí, la importancia de que estos se lleven a cabo bajo el estricto cumplimiento de las normativas nacionales e internacionales, así como las Buenas Prácticas Clínicas (BPC). La elección de un método para el desarrollo de los estudios de bioequivalencia depende de las características del medicamento y de la población estudiada.

En la actualidad, la Dirección Nacional de Medicamentos es la agencia reguladora encargada de la autorización de los centros de investigación, verificando el cumplimiento de la normativa internacional y nacional vigente, garantizando la seguridad de los participantes del estudio y la integridad de los datos, con la finalidad de que la población tenga acceso a medicamentos seguros, eficaces y de calidad a un precio asequible.

Referencias bibliográficas

1. Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT). (8 de Septiembre de 2006). Disposición 5040/2006, Especialidades Medicinales. Obtenido de Argentina.gob.ar: <https://www.argentina.gob.ar/anmat>
2. Agencia Nacional de Regulación, Control y Vigilancia Sanitaria (ARCSA). (2018). Normativa sanitaria bioequivalencia en medicamentos consumo humano. Resolución de la ARCSA 15. Guayaquil. Obtenido de Web ARCSA: https://www.gob.ec/sites/default/files/regulations/2021-10/Documento_ARCSA-DE-015-2018-JCGO_Normativa_t%C3%A9cnica_sanitaria_criterios_requisitos_para_demostrar_

bioequivalencia_biodisponibilidad_medicamentos_uso_humano.pdf

3. Center for Drug Evaluation and Research (CDER). (12 de 2002). Guidance for Industry Food-Effect Bioavailability and Fed Bioequivalence Studies. (U. D. Services, Ed.) Obtenido de U.S. Department of Health and Human Services, Food And Drug Administration (FDA): <https://www.fda.gov/files/drugs/published/Food-Effect-Bioavailability-and-Fed-Bioequivalence-Studies.pdf>
4. Centro Para el Control Estatal de la Calidad de los Medicamentos (CECMED). (s.f.). Regulación No. 18 - 07. Requerimientos para estudios de biodisponibilidad y bioequivalencia. Obtenido de Ministerio de Salud Pública; Centro Para el Control Estatal de la Calidad de los Medicamentos (CECMED): https://www.cecmed.cu/sites/default/files/adjuntos/Reglamentacion/reg.18-07_requerimientos_para_el_estudio_de_biodisponibilidad_y_bioequivalencia.pdf
5. Committee for Proprietary Medicinal Products. (2001). Note for guidance on the investigation of bioavailability and bioequivalence CPMP/EWP/QWP/1401/98. Obtenido de Web EMEA: <https://www.gmp-compliance.org/files/guidemgr/140198enfin.pdf>
6. Giarcovich, S. (1997). Implementación de Estudios de Bioequivalencia en las Américas, Estudio Diagnóstico. (R. P. PARF, Ed.) Obtenido de Web de la Red Panamericana para la Armonización de la Reglamentación Farmacéutica (Red PARF): https://www3.paho.org/spanish/ad/ths/ev/BE_ImpletEstudio04-esp.pdf
7. Instituto de Salud Pública de Chile (ISP). (2007). Guía Técnica G-BIOF 01: Estudios de Biodisponibilidad Comparativa con Producto de Referencia (R) para establecer Equivalencia Terapéutica. Obtenido de Web ISPCh: https://www.ispch.cl/sites/default/files/guia_tec_g_biof01.pdf
8. Laosa, O., & al., e. (2009). Estudios de bioequivalencia: la necesidad de establecer la fiabilidad de los medicamentos genéricos. Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública, 26(4), 553-562. Obtenido de http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-46342009000400019&lng=es&tlng=es
9. Montpart, E., & Martín, M. P. (01 de 2002). Estudios de bioequivalencia y especialidades farmacéuticas genéricas. Offarm, 21(1), 88-93. Obtenido de <https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-estudios-bioequivalencia-especialidades-farmaceuticas-genericas-13025050>
10. Organismo Salvadoreño de Reglamentación Técnica (OSARTEC). (03 de 2023). Reglamento Técnico Salvadoreño 11.02.01:22 Productos Farmacéuticos. Medicamentos de uso humano. Bioequivalencia y Biodisponibilidad. (D. o. Central, Ed.) Obtenido de Web OSARTEC: [https://osartec.gob.sv/wp-content/plugins/download-manager/viewer/viewer.php?dl=https://osartec.gob.sv/wp-content/uploads/download-manager-files/\(56\)%20D%20O%20RTS%2011.02.01_22%20PRODUCTOS%20FARMAC%3%89UTICOS%20MEDICAMENTOS%20DE%20USO%20HUMANO%20BIOEQUI](https://osartec.gob.sv/wp-content/plugins/download-manager/viewer/viewer.php?dl=https://osartec.gob.sv/wp-content/uploads/download-manager-files/(56)%20D%20O%20RTS%2011.02.01_22%20PRODUCTOS%20FARMAC%3%89UTICOS%20MEDICAMENTOS%20DE%20USO%20HUMANO%20BIOEQUI)
11. Organización Panamericana de la Salud (OPS). (2005). Criterios científicos para los ensayos de bioequivalencia (in vivo e in vitro), las bioexenciones y las estrategias para su implementación. Obtenido de Web OPS: <https://www.kerwa.ucr.ac.cr/bitstream/handle/10669/81198/CRITERIOS%20CIENT%3%8DFICOS%20PARA.pdf?sequence=1%26isAllowed=y>
12. Sigler, M. M. (1999). Bioequivalencia: Ensayo clínico para garantizar intercambiabilidad. Fármacos, 12(2), 47-60. Obtenido de <https://www.binasss.sa.cr/revistas/farmacos/v12n2/art6.pdf>
13. Villar, D. A. (Junio de 2012). Métodos de bioequivalencia escalada. Estudio de sus propiedades inferenciales [Trabajo fin de Máster]. Obtenido de Universitat Politècnica de Catalunya BarcelonaTECH: <https://upcommons.upc.edu/bitstream/handle/2099.1/18405/memoria.pdf>