

# Estudio de bioequivalencia de dos formulaciones de tabletas de carbamazepina de liberación retardada

ADRIANA M. RUIZ, MARGARITA M. RESTREPO, FANNY CUESTA, JULIÁN GIRALDO, ROSENDO ARCHBOLD, GLORIA HOLGUÍN

**E**N 12 VOLUNTARIOS SANOS SE EFECTUÓ UN ESTUDIO de bioequivalencia de dos preparados comerciales de carbamazepina en tabletas de liberación retardada. Este estudio permitió comparar la biodisponibilidad de la formulación de referencia Tegretol® Retard de Ciba Geigy elaborado en Colombia por Novartis, y la formulación de prueba Carbamazepina MK Retard, de Tecnoquímicas.

Para evaluar la bioequivalencia se determinaron las curvas de concentración plasmática vs tiempo de las dos formulaciones y se calcularon las áreas bajo la curva (AUC) y las concentraciones máximas (C<sub>máx</sub>).

Para la formulación de prueba el intervalo de confianza del 90% para el AUC estuvo entre 95.7 y 100.7% y para el C<sub>máx</sub> entre el 88.6 y el 106.1%. Para ambas determinaciones el rango de aceptación, según normas internacionales, está entre 80 y 125% de la formulación de referencia. Esto demuestra la bioequivalencia de las dos formulaciones.

.....  
ADRIANA M. RUIZ, MARGARITA M. RESTREPO, ROSENDO ARCHBOLD, GLORIA HOLGUÍN, Profesores del Departamento de Farmacia, Facultad de Química Farmacéutica, Universidad de Antioquia; Fanny Cuesta, Julián Giraldo, Profesores del Departamento de Farmacología, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

## PALABRAS CLAVE

CARBAMAZEPINA DE LIBERACIÓN  
RETARDADA

EVALUACIÓN DE BIOEQUIVALENCIA

BIODISPONIBILIDAD

## INTRODUCCIÓN

LA ADMINISTRACIÓN DE MEDICAMENTOS Y ALIMENTOS (FDA) de los Estados Unidos de Norteamérica, y la Organización Mundial de la Salud (1), publicaron una lista de principios activos con biodisponibilidades críticas, es decir, que en el caso de la administración de estos medicamentos por vía oral, no puede asegurarse la disolución del principio activo en las cantidades adecuadas, de tal manera que se garantice la eficacia terapéutica.

Los factores atribuibles al fármaco que pueden afectar su disolución, y por ende la biodisponibilidad, son los siguientes: el estado amorfo o cristalino, el polimorfismo, el estado de solvatación, las características de ionización, el pKa, el coeficiente de partición lípido/agua, el estado de la sal, ácido o base libre. Existen otros factores atribuibles a la forma farmacéutica, como si es sólida (tableta, gragea, cápsula) o líquida (suspensiones, emulsiones y jarabes), el tamaño de las partículas, el área superficial, la forma geométrica, el tipo y cantidad de excipientes, el tiempo de desintegración, la velocidad de disolución y otras variables en el proceso de manufactura. (2).

Por razones fisicoquímicas y farmacocinéticas, los productos que contienen carbamazepina fueron asignados por la FDA al grupo de sustancias de biodisponibilidades críticas; de igual manera, la Co-

misión Revisora del Ministerio de Salud de la República de Colombia, determinó que para los anticonvulsivantes es obligatorio el estudio de biodisponibilidad y bioequivalencia, permitiendo así estimar la eficacia terapéutica y establecer un adecuado régimen de dosificación.

Por ser la carbamazepina un medicamento muy utilizado en los tratamientos para las convulsiones parciales y las tónico-clónicas, cuando por alguna circunstancia no se puede administrar el producto innovador, se puede correr un riesgo al cambiar la terapia establecida si previamente no se ha realizado un estudio de bioequivalencia; esta es la justificación principal para el desarrollo de este estudio.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Diseño del estudio

El estudio se llevó a cabo utilizando un diseño aleatorio cruzado, de dosis única, con dos tratamientos, dos períodos, dos secuencias y con tiempo de lavado de tres semanas entre los dos períodos.

Los sujetos del estudio fueron asignados al azar, a cada una de las dos posibles secuencias de administración de los medicamentos, de tal forma que cada secuencia tuvo un número igual de sujetos.

### Voluntarios

El estudio se realizó sobre 12 voluntarios sanos, de sexo masculino, con edades entre los 20 y los 24 años, un peso promedio de 64.61 kg y una estatura promedio de 1.72 m. Sin alergias conocidas, problemas de farmacodependencia o tratamientos con medicamentos naturales o sintéticos. Además no eran consumidores habituales de alcohol, cafeína o cigarrillo.

Con el fin de confirmar el estado de salud de los voluntarios se los sometió a pruebas de laboratorio, tales como: hemograma completo, alanino-amino-transferasa (TGP), aspartato-amino-transferasa (TGO), creatinina en suero, colesterol total, triglicéridos, fosfatasa alcalina, albúmina y citoquímico de orina.

De acuerdo con los principios éticos de la Declaración de Helsinki, de la Organización Mundial de la Salud y de la Resolución N° 008430/93 del Ministerio de Salud de la República de Colombia, a todos los voluntarios se les informó en detalle sobre el presente estudio, se les resolvieron las dudas sobre el mismo y firmaron el consentimiento informado (3,4).

## Administración

Para los dos tratamientos se hospitalizaron los voluntarios en la Clínica del Prado. El primer día, desde las 6 hasta las 23 horas, se obtuvieron 7 muestras; el resto del muestreo se realizó en forma ambulatoria. Antes de la administración del medicamento se les tomó la primera muestra de sangre (tiempo cero), y luego se le suministraron a cada sujeto dos tabletas de 200 mg de la formulación de prueba o de la formulación de referencia, según la asignación al azar. Se obtuvieron las muestras de sangre en los siguientes tiempos en horas: 0.0, 1.0, 2.0, 4.0, 8.0, 12.0, 15.0, 24.0, 32.0, 48.0, 72.0, 80.0, 96.0, 104.0 y 120.0

Los alimentos se suministraron en el siguiente horario después de la administración del medicamento: desayuno, a las 2 horas; almuerzo, a las 5 horas; refrigerio, a las 8 horas, y la cena, a las 11 horas.

En cada tratamiento los voluntarios estuvieron bajo estricta vigilancia médica y tuvieron, entre los tratamientos, un período de lavado de tres semanas,

con el fin de minimizar el efecto residual hepático de autoinducción metabólica (5).

## Formulaciones

Se estudiaron los siguientes productos comerciales:

La formulación de prueba: carbamazepina MK Retard, tabletas de 200 mg, lote 8T2109, suministrada por Tecnoquímicas. En cuanto a la formulación de referencia, de acuerdo con las indicaciones de la FDA, fue el producto innovador Tegretol® Retard, de Ciba Geigy, elaborado por Novartis de Colombia, lote 841, el cual se obtuvo al azar en una farmacia pública local.

A los productos se les verificó la calidad de acuerdo con la metodología analítica suministrada por Tecnoquímicas.

## Método analítico

La determinación del contenido de carbamazepina en las muestras de sangre se realizó con el procedimiento analítico de Inmunofluorescencia Polarizada TDx/FLx, utilizando el estuche de pruebas para TDx de Abbott Laboratories USA; además, se efectuó la validación correspondiente.

## Parámetros farmacocinéticos

Se calcularon los siguientes parámetros farmacocinéticos:

**AUC<sub>0-t</sub>**: Área bajo la curva de concentración plasmática - tiempo, por la regla de trapecios en el intervalo de 0 a 120 horas

**C<sub>máx</sub>**: La concentración más alta obtenida de la curva concentración plasmática - tiempo

**T<sub>máx</sub>**: El tiempo en el cual se obtiene la C<sub>máx</sub>

**k:** La constante de eliminación, determinada con los valores terminales de la curva semilogarítmica de concentración plasmática - tiempo

**AUC<sub>0</sub><sup>∞</sup>:** El área bajo la curva de concentración plasmática - tiempo de cero a infinito.

## Análisis estadístico

Los parámetros farmacocinéticos, AUC<sub>0</sub><sup>∞</sup>, Cmáx y tmáx se evaluaron mediante análisis de varianza teniendo en cuenta las siguientes fuentes de variación:

**Intersujetos:** secuencias

**Intrasujetos:** período y formulación

Para evaluar la bioequivalencia, se usó el método de las dos pruebas unilaterales sugerido por Schuirmann (6) y aceptado por la FDA, teniendo en cuenta el error estándar del ANOVA realizado para cada parámetro. El nivel de significancia para las pruebas fue  $\alpha = 0.05$  y se construyeron intervalos de confianza del 90% para el cociente entre las medias de la formulación de prueba y la formulación de referencia.

La formulación de prueba se consideró bioequivalente con respecto al producto de referencia si los intervalos del 90% de confianza para el cociente de medias de los datos transformados a logaritmos, tanto para el AUC como el Cmáx, están incluidos en el intervalo del 80% al 125% aceptado como criterio estándar de equivalencia.

## RESULTADOS

Al realizar el estudio sólo dos sujetos manifestaron reacciones adversas, cada uno en período diferente: uno cefalea, y el otro un brote maculopapular eritematoso localizado principalmente en el tronco y en la parte proximal de las extremidades superiores, el cual le duró cuatro días.

Las determinaciones de carbamazepina en las muestras de sangre permitieron la construcción de las curvas concentración plasmática (mg/ml) vs tiempo (horas) para cada voluntario en cada uno de los períodos, y calcular los parámetros farmacocinéticos (AUC<sub>0</sub><sup>t</sup>, AUC<sub>0</sub><sup>∞</sup>, Cmáx, tmáx y k) para cada voluntario. Los resultados se presentan en la tabla N° 1.

Los niveles plasmáticos medios de carbamazepina para cada producto, en cada tiempo de muestreo se presentan en la tabla N° 2 y las curvas del perfil plasmático medio vs. el tiempo se presentan en la figura N° 1.

Para determinar la bioequivalencia, se realizó inicialmente un análisis de varianza a los parámetros farmacocinéticos, AUC, Cmáx y tmáx (Tabla N° 3), con el fin de evaluar las fuentes de variación: producto, sujeto-secuencia, secuencia y períodos; luego se calcularon los intervalos de confianza utilizando el cuadrado medio del error.

La confrontación de los parámetros determinados in vivo (concentraciones plasmáticas (mg/ml) vs tiempo (horas) con el parámetro in vitro de liberación del principio activo, calculado como porcentaje (%) de carbamazepina disuelta, en los tiempos establecidos por la técnica analítica de Tecnoquímicas, es muy importante en el control de calidad de las formas farmacéuticas sólidas y en particular cuando la liberación es modificada como sucede en este caso que es retard. Los resultados de las pruebas in vitro se presentan en la tabla N° 4.

TABLA N° 1

PARÁMETROS FARMACOCINÉTICOS PARA CADA INDIVIDUO ORDENADOS POR SECUENCIA Y PERÍODO (n = 12)\*

SECUEN- CIA	SUJETO	PERÍODO 1					PERÍODO 2				
		AUC <sub>0</sub> <sup>†</sup>	K	AUC <sub>0</sub> <sup>α</sup>	Cmáx	tmáx	AUC <sub>0</sub> <sup>†</sup>	K	AUC <sub>0</sub> <sup>α</sup>	Cmáx	Tmáx
Pr – Pp**	1	213.2176	0.0287	238.2688	3.0100	31.8800	239.5654	0.0300	270.5733	3.5600	31.5500
Pr – Pp	2	169.5583	0.0231	195.4824	2.7200	24.7000	143.2027	0.0221	169.4079	2.4700	32.4200
Pp – Pr	3	212.7029	0.0234	234.0488	3.2900	32.3300	212.7988	0.0202	256.4255	2.7600	24.8800
Pp – Pr	4	286.9161	0.0236	316.5766	3.8200	31.6300	244.4002	0.0349	272.4698	3.5900	71.7500
Pp – Pr	5	251.2014	0.0269	274.6440	3.1600	32.1700	244.5036	0.0311	273.4293	3.5800	48.5800
Pr – Pp	6	315.2287	0.0198	374.2196	3.6400	47.6800	210.8295	0.0223	253.8231	3.3300	23.9200
Pp – Pr	7	96.0323	0.0273	115.0887	2.1500	32.0000	200.4226	0.0359	227.1598	3.2600	32.2000
Pp – Pr	8	289.5895	0.0329	310.2502	3.8000	31.8800	233.8453	0.0304	264.4726	3.5200	33.1700
Pr – Pp	9	288.1592	0.0262	288.1592	3.8200	31.6700	255.0322	0.0175	327.0467	3.5500	47.9200
Pr – Pp	10	301.9949	0.0259	332.9186	3.8200	31.8700	197.0410	0.01960	240.9757	3.3300	24.2800
Pp – Pr	11	252.3074	0.0277	270.3754	3.5600	24.7800	228.8508	0.0298	259.0335	3.3000	49.0200
Pr – Pp	12	235.2701	0.0367	251.6085	3.5000	24.4200	204.8088	0.0334	226.3862	3.0000	24.8000

\* Los datos de esta tabla fueron obtenidos utilizando una corrección entre el tiempo real de la muestra y el tiempo teórico para la obtención

\*\* Pr: formulación de referencia (Tegretol®), Pp: formulación de prueba

TABLA N° 2.

NIVELES PLASMÁTICOS MEDIOS DE CARBAMAZEPINA ( $\mu\text{g/ml}$ ) PARA CADA PRODUCTO EN CADA TIEMPO DE MUESTREO

Tiempo (horas)	Producto de referencia $\pm$ D.E.*	Producto de prueba $\pm$ D.E.
0	0.0000	0.0000
1	0.4692 $\pm$ 0.2298	0.5375 $\pm$ 0.2491
2	0.9200 $\pm$ 0.3337	0.9067 $\pm$ 0.2751
4	1.3217 $\pm$ 0.2597	1.2642 $\pm$ 0.3337
8	1.6390 $\pm$ 0.2322	1.4319 $\pm$ 0.3061
12	1.9050 $\pm$ 0.3439	1.7900 $\pm$ 0.3398
15	2.1292 $\pm$ 0.3933	2.1267 $\pm$ 0.3512
24	2.7050 $\pm$ 0.5627	2.9008 $\pm$ 0.5430
32	3.1425 $\pm$ 0.5220	3.0725 $\pm$ 0.5483
48	3.0133 $\pm$ 0.5448	2.6925 $\pm$ 0.7245
72	2.3934 $\pm$ 0.6389	1.9450 $\pm$ 0.6560
80	2.0117 $\pm$ 0.5900	1.6750 $\pm$ 0.6490
96	1.3792 $\pm$ 0.4373	1.2844 $\pm$ 0.5032
104	1.1363 $\pm$ 0.4065	0.9640 $\pm$ 0.2695
120	0.8900 $\pm$ 0.2476	0.6020 $\pm$ 0.0965

D.E: desviación estándar

FIGURA N° 1

CONCENTRACIÓN PLASMÁTICA MEDIA PARA CADA UNA DE LAS FORMULACIONES VS. TIEMPO

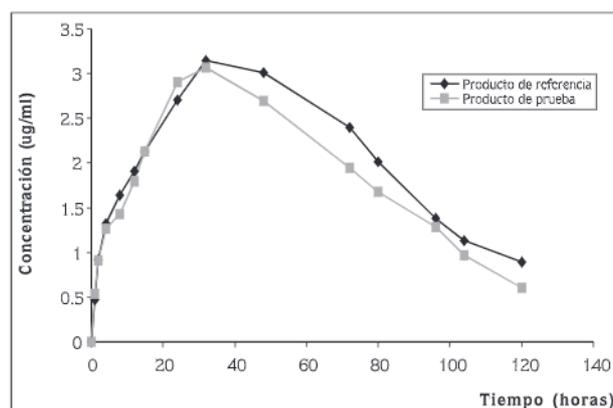


TABLA N° 3

ANÁLISIS DE VARIANZA PARA AUC,  $C_{m\acute{a}x}$ , Y  $t_{m\acute{a}x}$

Fuente de variación	g.l.	AUC			$C_{m\acute{a}x}$			$t_{m\acute{a}x}$		
		MC	F	P	MC	F	P	MC	F	p
Producto	1	0.0610	1.77	0.21	0.0061	0.29	0.60	132.54	0.85	0.38
Sujeto (secuencia)	10	0.0924	2.68	0.07	0.0233	1.12	0.43	89.95	0.58	0.80
Secuencia	1	0.0101	0.11	0.75	0.0043	0.18	0.68	81.11	0.90	0.36
Períodos	1	0.0060	0.17	0.69	0.0022	0.11	0.75	325.90	2.09	0.18
Error	10	0.0345			0.0208			155.67		

## DISCUSIÓN

EL ESTUDIO DE LA BIODISPONIBILIDAD, entendida como “la medida de la velocidad y de la cantidad del ingrediente activo o fármaco que, contenido en un

medicamento, alcanza la circulación general” (7), es un parámetro de la mayor importancia en la terapéutica, debido a que la velocidad y la magnitud de la absorción del principio activo pueden, en principio, tener efecto sobre la respuesta del paciente al fármaco.

**TABLA 4**  
**RESULTADOS DE LOS ANÁLISIS DE CONTROL DE CALIDAD**

Ensayo	Especificación	Producto de referencia	Producto de prueba						
Valoración	95.0% al 110.0%	192.0 mg/tableta (96.0%)	201.7 mg/tableta (100.8%)						
Uniformidad de dosis (%)	85.0% al 115.0% y RSD ≤ 6.0	94.6 – 97.2 – 95.5 – 93.4 – 95.6 97.5 – 96.5 – 95.6 – 97.1 – 96.7 RSD = 1.0%	102.2 – 99.5 – 92.6 – 93.2 – 92.1 99.6 – 91.1 – 95.8 – 96.9 – 99.6 RSD = 4.0%						
Liberación del principio activo (% de carbamazepina disuelto)	Intervalos 1h      25 – 55 4h      60 – 80 8h      ≥ 80 Criterio de aceptación: Promedio L <sub>1</sub> +L <sub>2</sub> dentro de los rangos	L <sub>1</sub> L <sub>2</sub> L <sub>1</sub> +L <sub>2</sub>	Promedios	Promedios					
			1 hora	4 horas	8 horas	1 hora	4 horas	8 horas	
			48.0	77.8	99.3	L <sub>1</sub>	37.7	80.0	96.9
			42.4	76.7	104.1	L <sub>2</sub>	36.9	77.7	101.7
			45.2	77.3	101.7	L <sub>1</sub> +L <sub>2</sub>	37.3	78.9	99.3

Otro concepto de importancia es el de bioequivalencia, el cual hace referencia a los estudios de biodisponibilidad comparativa entre dos o más medicamentos del mismo fármaco, los cuales se evalúan bajo el mismo diseño experimental, para minimizar los errores inherentes a este tipo de estudios in vivo (8).

Los problemas particulares de las formulaciones de carbamazepina son el estrecho rango terapéutico y la escasa solubilidad en agua; este último factor puede influenciar la liberación del fármaco a partir de su forma de dosificación, lo que se manifiesta en problemas de biodisponibilidad y por ende de bioequivalencia (9).

El presente estudio se realizó con formulaciones de carbamazepina de liberación retardada, diseñadas para entregar en un período más prolongado la misma cantidad de principio activo que una forma de dosificación convencional entrega en menor tiempo; esto explica por qué al suministrarle a cada voluntario tres tabletas de carbamazepina, las con-

centraciones plasmáticas obtenidas son inferiores a las concentraciones terapéuticas. Por lo tanto, este resultado no significa que no se alcanzarán los niveles terapéuticos, puesto que éstos se logran por la acumulación del fármaco, después de la administración repetida del medicamento, a intervalos de dosificación establecidos, hasta llegar al estado estacionario que debe estar ubicado dentro de la ventana terapéutica.

El análisis estadístico de los parámetros farmacocinéticos AUC, C<sub>máx</sub> y t<sub>máx</sub> mostró que el intervalo de confianza del 90.0% para la proporción de las medias del t<sub>máx</sub> de la formulación de prueba y la formulación de referencia no está incluido en el intervalo del 85.0% al 125.0% lo que indica bioinequivalencia de las formulaciones, pero este parámetro no se tuvo en cuenta para la decisión final ya que no se lo considera de importancia clínica puesto que el medicamento se utiliza en tratamientos crónicos y por esto la normatividad internacional y nacional no lo consideran en la determinación de bioequivalencia.

Hay una situación particular en la que es importante tener en cuenta el  $t_{m\acute{a}x}$  y es el caso de intercambio de productos, sea desde un medicamento de marca a uno genérico o viceversa. Según Mayer et al. el intercambio entre los mismos medicamentos de diferentes laboratorios fabricantes puede presentar problemas clínicos individuales tales como incremento en los desórdenes o en los efectos adversos (10); estas situaciones podrían explicarse por diferencias en el  $t_{m\acute{a}x}$  y desaparecerían una vez que el paciente alcance de nuevo el estado estacionario con la nueva formulación.

Finalmente, en este estudio se demostró la bioequivalencia de la formulación de prueba con respecto a la de referencia Tegretol®, bajo iguales condiciones clínicas, cumpliendo con requisitos establecidos en las regulaciones nacionales e internacionales (8,11). Esto se observa fácilmente al analizar la figura N° 3 correspondiente a los niveles plasmáticos medios con relación al tiempo. Además, los intervalos de confianza para la proporción de las medias del AUC y  $C_{m\acute{a}x}$ , de la formulación de prueba y la formulación de referencia, están contenidos en el intervalo de confianza del 80 % al 125 % de la formulación de referencia (4,8).

## AGRADECIMIENTOS

LOS AUTORES AGRADECEN A TECNOQUÍMICAS S.A. el apoyo financiero sin el cual no hubiera sido posible la realización de este estudio. Al profesor Abel Díaz por sus aportes en el análisis estadístico de este estudio. A la estudiante de práctica profesional del Programa de Química farmacéutica, Milena del Rocío Pérez, por su valiosa colaboración durante el desarrollo de este estudio.

## SUMMARY

### STUDY OF BIOEQUIVALENCE OF TWO CARBAMAZEPINE RETARD-RELEASE TABLET FORMULATIONS

A study of the bioequivalence of two commercial carbamazepine retard-release formulations was carried out in 12 healthy volunteers. Studies of bioequivalence allow to compare the bioavailability of the innovator formulation with generic, alternative or branch formulations. In order to evaluate the bioequivalence, plasma carbamazepine concentration/time curves were obtained for the Tegretol® Retard Tablets –reference formulation– and for the test formulation; the area under each curve and the maximum concentration were calculated. After the calculation, statistical analysis of data for the area under the curve of the Carbamazepine Retard Tablets –test formulation, was between 95.7% and 100.7 % and the maximum concentration of the test formulation was between 88.6% and 106.1%; both parameters with the 90% confidence interval. Since the acceptance range was determined to be between 80.0% and 125.0% of the reference formulation, we concluded from this study that the two formulations are bioequivalent.

## BIBLIOGRAFÍA

1. SCHULZ HU, DÜSING R, GRUNWALD F, CZAJA J, LÜHRMANN B. Investigation of bioequivalence of two carbamazepine sustained-release formulations in healthy subjects. Intern J Clin Pharmacol Therapy Toxicol 1992; 30: 410-414.
2. ARANCIBIA A. Biodisponibilidad de medicamentos, conceptos y proyecciones. En: Biodisponibilidad de medicamentos. II Simposio Internacional y Relación Universidad Industria. Universidad de Chile; 1993: 21-38.

3. Ministerio de Salud, República de Colombia, Normas Científicas, Técnicas y Administrativas para la Investigación en Salud, Resolución N° 008430 de 1993.
4. Guía de biodisponibilidad y bioequivalencia. Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos, INVIMA. Bogotá; 1997; Acta 51, pág 4.
5. SAAVEDRA I, PASSALACQUA A, CHÁVEZ H, BIAGINI L, GALDAMES D. Carbamazepina: Biodisponibilidad de cuatro productos farmacéuticos orales. *Rev Med Chile* 1990; 118: 1.123-1.128.
6. SCHUIRMANN DJ. A comparison of the two-one side test procedure and the power approach for assessing the equivalence of average bioavailability. *J Pharmacokinetics Biopharmaceutics* 1987; 15: 657-681.
7. LLABRÉS M. Evaluación de la bioequivalencia, bioequivalencia poblacional e individual. *An Real Acad Farm* 1997; 63: 493-531.
8. USP 23-NF 18 (Supl. 3). En: Pautas para la bioequivalencia in vivo. Rockville: US Pharmacopeial Convention. Parte 2, 1995. p. 3.
9. GRUNWALD F, CZAJA J, DÜSING R, SCHULZ HU. Pharmaceutical and biopharmaceutical quality of a sustained release carbamazepine preparation: a contribution to quality assurance. *Internat J Clin Pharmacol Therapy Toxicol* 1992; 30: 160-166.
10. MAYER T, MAY TW, ALTENMÜLLER M, SANDMANN M, WOLF P. Clinical problem with generic antiepileptic drugs. Comparison of sustained release formulations of carbamazepine. *Clin Drug Invest* 1999; 18: 17-26.
11. Committee for Proprietary Medicinal Products (CPMP). Note for guidance on investigation of bioavailability and bioequivalence. London: The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products – EMEA. 1998.
12. SHARGEL L, YU ABC. *Applied Biopharmaceutics and Pharmacokinetics*. 3<sup>th</sup>ed. Connecticut: Appleton and Lange; 1993: 625.



