

Protocolo para la valoración *in vivo* de las interferencias producidas por medicamentos

Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular
Comité Científico
Comisión de Interferencias y Efectos de los Medicamentos en Bioquímica Clínica¹

Documento G, Fase 3, Versión 1

Preparado por H. Douezi Lecha y R. Galimany Solé
Con la colaboración de J. Costa, P. Giner y J. L. Castaño Vidriales

Índice

- 0 Introducción
- 1 Objetivos
- 2 Control de los factores de variación
- 3 Información del medicamento
- 4 Selección de los procedimientos analíticos
- 5 Protocolo de estudio
- 6 Tratamiento estadístico
 - 6.1 Tamaño de la muestra
 - 6.2 Influencia de los factores de variación y elección del procedimiento analítico
 - 6.3 Análisis estadístico
- 7 Ejemplo de recogida de datos y estadística
- 8 Interpretación de resultados
- 9 Bibliografía

0 INTRODUCCIÓN

La presencia de un medicamento o su metabolito en una muestra procedente de un paciente se debe considerar como un posible factor de variación de las magnitudes biológicas (1,2). Esta variación puede proceder de dos aspectos distintos:

- Interferencia analítica
- Efecto biológico

Se considera que un medicamento o su metabolito causa una interferencia analítica cuando interviene en alguna etapa de un procedimiento analítico, modificando el resultado de la medida de una magnitud biológica, obteniéndose, por tanto, un valor falseado.

Se produce un efecto biológico cuando el medicamento o su metabolito modifica la concentración de un componente sanguíneo o de otro líquido biológico, que puede expresarse como una alteración en los resultados de la medición de una o varias magnitudes biológicas. Los resultados que se obtienen en este caso son reales ya que corresponden a una modificación en el organismo.

Antes de proceder con este protocolo se valorará la posible existencia de una interferencia analítica (2) para: a) comprobar

la existencia de una interferencia analítica *in vitro*, b) garantizar la validez de los resultados del procedimiento analítico y c) evitar atribuir a un medicamento un efecto que no tiene. En cualquiera de estos casos este protocolo se plantea con los siguientes objetivos.

1 OBJETIVOS

- 1) Comprobar si la interferencia analítica *in vitro* producida por un fármaco o un metabolito afecta también *in vivo*.
- 2) Conocer y cuantificar la interferencia *in vivo*.
- 3) Comprobar si la variación producida tras la administración de un fármaco es debida a una interferencia analítica o a un efecto biológico.
- 4) Proporcionar un método de trabajo para: recoger, muestrear, procesar e interpretar los resultados que se obtengan.

2 CONTROL DE LOS FACTORES DE VARIACIÓN

Para estudiar el efecto del medicamento *in vivo* es necesario conocer previamente los diferentes factores de variación que puedan intervenir en algún momento del proceso.

Deberán conocerse y descartarse los posibles factores de variación (3): preanalíticos, analíticos, biológicos.

Los factores preanalíticos y los analíticos se describirán y controlarán durante el estudio.

Entre los numerosos factores de variación biológicos destacan las variaciones fisiológicas: edad, sexo y masa corporal y las posibles alteraciones patológicas, que pueden descartar el estudio del efecto biológico de un medicamento.

En el protocolo se definirán los sujetos que forman parte del estudio con una descripción lo más detallada posible en enfermedades o síndromes. Será conveniente que durante el estudio el sujeto no tome ningún otro medicamento ni cambie sus hábitos. Así mismo, se confeccionará un cuestionario que resuma y facilite el mayor conocimiento de las características de cada individuo, para un posterior agrupamiento; este cuestionario se cumplimentará previamente en la toma de muestras basal.

Los datos que debe incluir el cuestionario son:

- Fecha de realización
- Nombre
- Sexo
- Edad/ fecha de nacimiento
- Estatura

¹Composición de la Comisión: F. Antoja Ribó, M.T. Casamajó Dalmau, J.L. Castaño Vidriales (Presidente), P. Chueca Rodríguez, M. Doménech Clar, H. Douezi Lecha, M.D. Fernández Delclós, R. Galimany Solé, N. Gascón Roche, J.M. Gelabert Orench, R. Güell Miró, I. Rojo Vizcaino

- Masa corporal
- Patología propia o familiar
- Tratamiento:
 - *Nombre de los medicamentos
 - *Fecha de inicio
 - *Vía de administración
 - *Posología
 - *Fecha de la última toma
 - *Efectos adversos producidos por el medicamento

Para evitar posibles variaciones debidas a la recogida del espécimen se estandarizarán las condiciones de su realización.

3 INFORMACIÓN DEL MEDICAMENTO

Es necesario tener una información detallada del medicamento (2), siendo imprescindible conocer:

- Principio activo: es importante especificar cual es el principio activo, si el propio medicamento, o su metabolito.
- Características físico-químicas:
 - *Masa molar
 - *Forma de presentación
 - *Punto de fusión
 - *Estructura química
 - *Solubilidad
 - *Estabilidad
 - *Riqueza inicial

-Forma farmacéutica:

Debe tenerse en cuenta la presencia de otros componentes (excipientes) susceptibles de interferir como son: aditivos, colorantes, aromatizantes, conservantes, etc.

-Aspectos farmacocinéticos:

- *Concentración plasmática mínima
- *Concentración plasmática máxima
- *Tiempo para alcanzar la concentración plasmática máxima
- *Concentración plasmática, cuando se alcanza el estado de equilibrio estacionario
- *Tiempo para alcanzar el estado de equilibrio estacionario
- *Metabolitos
- *Semivida
- *Fijación a proteínas plasmáticas
- *Vías de eliminación
- *Tiempo para alcanzar la eliminación total

Con el fin de lograr una mayor eficacia en la realización del estudio es importante la colaboración de los médicos, farmacéuticos y personal de enfermería, y es imprescindible el control de la dosis, la hora, la vía de administración, la duración del tratamiento y los medicamentos asociados.

Es necesario conocer durante el estudio la concentración sanguínea o urinaria del medicamento.

4 SELECCIÓN DE LOS PROCEDIMIENTOS ANALÍTICOS

El estudio debe realizarse en aquellos procedimientos analíticos que reúnan alguno de los siguientes criterios:

- 1) Los procedimientos analíticos afectados por medicamentos de la familia química del medicamento en estudio y descritos previamente en la bibliografía y que no hayan sido investigados.
- 2) Las magnitudes biológicas o funciones alteradas por el medicamento en estudios tóxico-farmacológicos previos.
- 3) Las magnitudes biológicas que previamente presentan in-

terferencia *in vitro* por el fármaco y se desee comprobar su efecto *in vivo*.

4) Las magnitudes biológicas habitualmente utilizadas en el control y seguimiento de las enfermedades tratadas con el medicamento.

5) Eventualmente, se pueden incluir aquellas magnitudes biológicas que por la experiencia personal previa se sospeche que puedan estar afectados por una interferencia *in vivo*.

También se describirá detalladamente la técnica y el procedimiento analítico, así como el tipo de analizador utilizado

- La técnica y procedimiento analítico
- La presencia de reactivos
- El tipo de analizador

5 PROTOCOLO DE ESTUDIO

Se obtendrá al menos un espécimen antes de iniciar el tratamiento (E₀), el cual será testigo para cada sujeto y permitirá hacer un balance biológico inicial.

El procedimiento de recogida de especímenes será función de la forma de administración del fármaco, de modo que:

a) Si se administra una dosis única del medicamento: se recogerá un espécimen coincidiendo con la concentración plasmática máxima del medicamento en el líquido biológico (E₁). Se recogerá un segundo espécimen a partir del momento en que haya sido eliminado el medicamento (E_x), o bien, si este dato es desconocido, a las 48 horas de la administración. Se recogerá un tercer y último espécimen a las dos semanas de finalizado el tratamiento (E_y).

b) Si se realiza una administración múltiple del medicamento: se recogerá un espécimen una vez alcanzado el estado de equilibrio estacionario. La recogida del espécimen se practicará inmediatamente antes de la toma de la dosis siguiente de medicación, es decir, en el valle del estado estacionario. Se repetirá la recogida del espécimen una vez cada siete días, siempre antes de la toma del medicamento (E₁ → E_n), (siendo n el número de semanas de tratamiento). Una vez finalizado el tratamiento se tomará un espécimen a las 48 horas de eliminado el medicamento (E_x). Una última recogida de especímenes se efectuará a las semanas de concluido el tratamiento (E_y).

Los tiempos de obtención de recogida de los especímenes se modificarán según las características farmacológicas o el objetivo del estudio.

6 TRATAMIENTO ESTADÍSTICO

6.1 Tamaño de la muestra

El tamaño de muestra mínimo se debe calcular *a priori* (4).

Se recomendará calcular el tamaño de muestra necesario para cada procedimiento analítico y optar por el número de sujetos más alto obtenido para realizar el estudio en todos los procedimientos analíticos.

6.2 Influencia de los factores de variación y elección del procedimiento analítico

Se comprobará, en primer lugar, la posible existencia de factores de variación, (como grupos de enfermedades y su correspondiente medicación), que hagan variar la evolución de los procedimientos analíticos. No se tendrán en cuenta aquellos factores de variación que producen una diferencia constante en todos los días de recogida de muestra como por ejemplo el sexo.

Dependiendo del factor de variación, se emplearán unas pruebas estadísticas u otras, de modo que:

- a) Si el factor de variación es cualitativo y:

Tabla I. Etapas de recogida

Procedimiento analítico	E ₀	E _n	E _x	E _y
Magnitud 1	Valor magnitud 1 del sujeto A a nivel basal	Valor de magnitud 1 del sujeto A en los días de recogida	Valor de magnitud 1 del sujeto A, 48 horas postadministración	Valor de magnitud 1 del sujeto A, dos semanas postadministración
Magnitud 2				
Magnitud 3				
Magnitud 4				

Tabla II. Ejemplo de recogida de datos y estadística

SUJETO	Valor de la magnitud 1 en diferentes días de recogida					
	E ₀	E ₁	E ₂	E _n	E _x	E _y
1						
2						
3						
4						
\bar{x}	M ₀	M ₁	M ₂	M _n	M _x	M _y

a1) Si se puede utilizar una prueba paramétrica: se empleará la prueba *t* de Student (para factores de variación con 2 categorías) o el Bonferroni de grupos independientes (para factores de variación de más de 2 categorías).

a2) Si no se puede utilizar una prueba paramétrica: se aplicará la prueba de *U* de Mann-Whitney (factor de variación con 2 categorías) o la prueba de Kruskal-Wallis (factor de variación con más de 2 categorías).

b) Si el factor de variación es cuantitativo: se aplicará la correlación de Pearson si es factible el uso de una prueba paramétrica o la correlación de Spearman en caso de prueba no paramétrica.

Si el análisis de los factores de variación resulta estadísticamente significativo ($P < 0,05$), se controlará su efecto en el estudio de los procedimientos analíticos, estratificando por subgrupos de sujetos.

6.3 Análisis estadístico

Agrupar los resultados en series apareadas, siendo cada sujeto su propio testigo.

Sólo se tendrán en cuenta para el estudio los datos completos en todas las determinaciones.

Comprobar la normalidad de las distribuciones mediante la prueba de Kolmogorov-Smirnov (5). En caso de hallarse normalidad se aplicará la prueba paramétrica de Bonferroni en medidas repetidas, mediante la prueba *t* de Student para datos apareados con penalización tipo Dunnet (6); y en caso contrario, se aplicará la prueba no paramétrica de análisis de la variancia de Friedman (7).

Si se utiliza el Bonferroni paramétrico, se aplicará el análisis de los errores (residuales) para comprobar el cumplimiento de

algunos supuestos del Bonferroni como: independencia de residuales, homogeneidad de variancias, ausencia de valores extremos, etc. En el caso de incumplimiento de estos supuestos, se repetirá el análisis estadístico mediante una prueba no paramétrica.

7 EJEMPLO DE RECOGIDA DE DATOS Y ESTADÍSTICA

Se introducirán los resultados de los procedimientos analíticos de cada sujeto en una base de datos.

Véase ejemplo en la tabla I:

–Existirán tantas filas como procedimientos analíticos se decida determinar en el estudio.

–Existirán tantas columnas correspondientes a *n* como días de recogida del espécimen durante todo el tiempo de administración del fármaco.

–Cada tabla corresponde a un sujeto, por lo tanto cada sujeto tendrá su tabla correspondiente además de los otros datos mencionados en la parte referente al cuestionario.

Se procesarán todos los datos mediante el tratamiento estadístico expuesto anteriormente.

Vease ejemplo en la tabla II: mediante el método de análisis de la variancia se comparan las medias de todos los sujetos para cada procedimiento analítico en los diferentes días de recogida.

Si se observa en el análisis de la variancia para datos apareados una variación significativa ($P < 0,05$), para ver cuando se produce la variación se estimará la cuantía de la diferencia entre las medias de los grupos comparados mediante el planteamiento

miento de contrastes *a priori* e intervalo de confianza. Estos nos permitirán comparar la media correspondiente a cada procedimiento analítico en todos los sujetos del estudio en estado basal (M_0), frente a la media de su correspondiente procedimiento analítico en cada una de las recogidas de espécimen.

Comparar: M_0 con M_1
 M_0 con M_n
 M_0 con M_x
 M_0 con M_y

La cuantía de la diferencia de los grupos se establecerá mediante el intervalo de confianza del valor del contraste, siendo significativo si no incluye el valor cero (equivalente a $P < 0,05$).

Si la significación estadística se obtiene por procedimientos no paramétricos, se realizarán dichas comparaciones entre mediciones mediante la prueba Y de Wilcoxon, corrigiendo el estadístico α según el número de comparaciones efectuadas:

$$\alpha^* = \alpha / (n.^{\circ} \text{ comparaciones} - 1)$$

$$\alpha^* = \alpha \text{ corregido}$$

8 INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Se considerará que existe una interferencia *in vivo* estadísticamente significativa y producida por el medicamento cuando el resultado del intervalo de confianza de la variación de la magnitud obtenida sea superior a 3 desviaciones típicas de un estudio de repetibilidad para el procedimiento analítico correspondiente (8).

Una interferencia *in vivo* analíticamente significativa se considerará clínicamente significativa, cuando en términos relati-

vos el valor de la interferencia sea mayor de la mitad del coeficiente de variación biológico intraindividual (8).

Es importante comparar los resultados de la interferencia producida por un medicamento en un procedimiento analítico *in vivo*, con las interferencias obtenidas *in vitro* para ver si son distintas y no existen otros factores que justifiquen esta discrepancia de resultados.

9 BIBLIOGRAFÍA

1. Sociedad Española de Química Clínica. Comisión efectos de los medicamentos en química clínica. Efectos de los medicamentos en química clínica: Nociones generales y objetivos. *Quim Clin* 1989; 8: 353-5.
2. Sociedad Española de Química Clínica. Comisión efectos de los medicamentos en química clínica. Protocolo para la valoración *in vitro* de las interferencias por medicamentos. *Quim Clin* 1992; 11: 449-52.
3. Sociedad Española de Química Clínica. Comisión de valores de referencia. Variaciones analíticas y extra-analíticas en la producción de los valores de referencia. *Quim Clin* 1984; 3: 43-50.
4. Argimón JM, Jimenez J. Métodos de investigación. Barcelona: Mosby/Doyma Libros, 1994.
5. Batlle P, Visauta B. Estadística aplicada a la psicología. Unidad didáctica 2: Teoría de la probabilidad. Madrid: Ediser, 1981.
6. Peña D. Estadística, modelos y métodos: vol 2. Madrid: Alianza Universidad Textos, 1986.
7. Siegel S. Estadística no paramétrica. Madrid: Trillas, 1970.
8. Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular. Comisión efectos de los medicamentos en química clínica. Estudio de las interferencias analíticas endógenas en química clínica. *Quim Clin* 1994; 13: 84-92.

Correspondencia:

Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular
Comisión de Interferencias y Efectos de los Medicamentos en Bioquímica Clínica
C/ Padilla, 323-325, entl. 4.^ª
08025 Barcelona