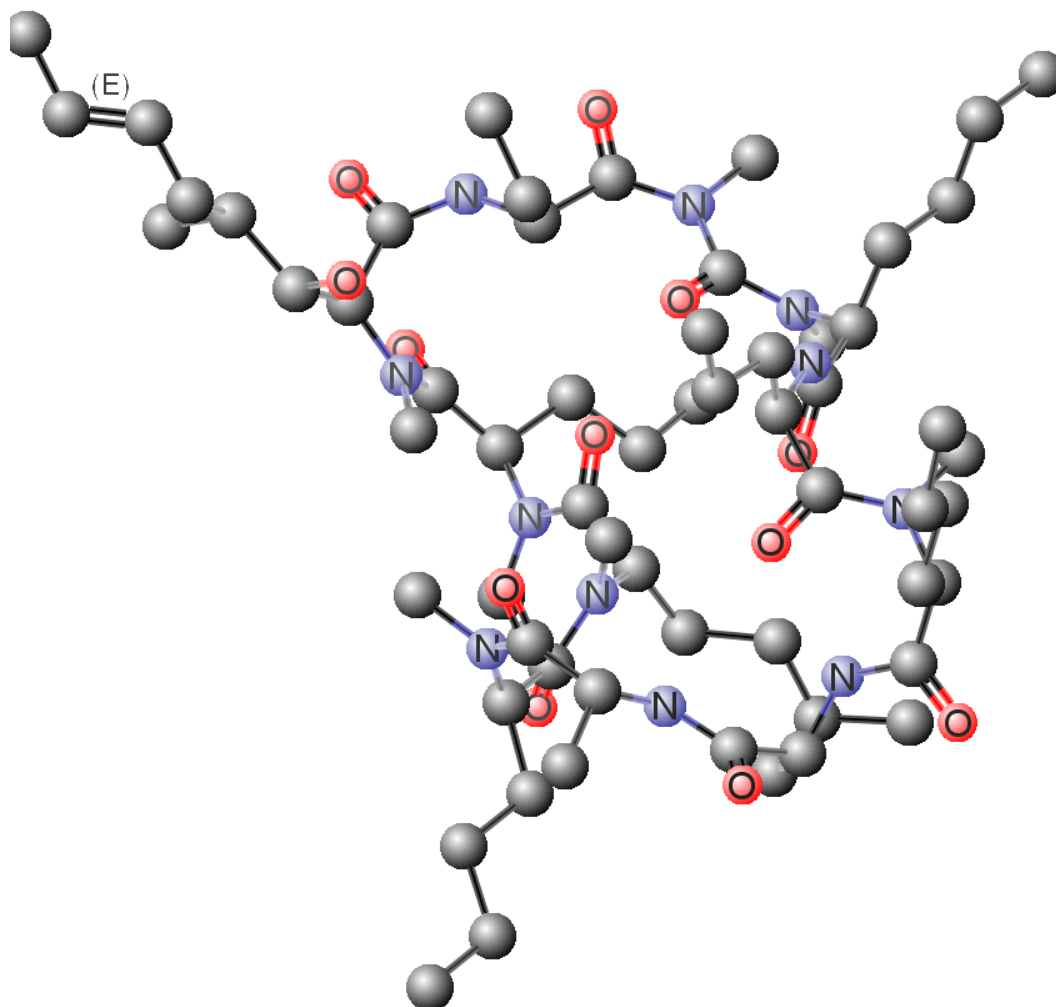


## Guía de Procedimiento de determinación cuantitativa de Ciclosporina

Servicio de Patología Clínica  
Unidad de Soporte al Diagnóstico y Tratamiento



Elaborado por:	Revisado por:	Aprobado por:
Equipo Técnico del área de Inmunología Especializada del Servicio de Patología Clínica	<ul style="list-style-type: none"><li>• Unidad de Apoyo al Diagnóstico y Tratamiento</li><li>• Unidad de Gestión de la Calidad</li></ul>	Dr. Antonio Ricardo Zopfi Rubio Director (e) del Instituto Nacional de Salud del - Niño San Borja

Fecha: Marzo 2019	GP-028/INSN-SB/USDXT/PC-V 0.1	Página 1 de 10
-------------------	-------------------------------	----------------

## Guía de Procedimiento de determinación Cuantitativa de Ciclosporina

I.	Título.....	3
II.	Finalidad .....	3
III.	Objetivo .....	3
IV.	Ámbito de aplicación .....	3
V.	Nombre del Proceso o Procedimiento a Estandarizar y Código CPT .....	3
VI.	Consideraciones Generales .....	3
	a. Definiciones Operativas .....	3
	1. Definición del Procedimiento.....	3
	b. Conceptos Básicos .....	4
	c. Requerimientos Básicos .....	4
VII.	Consideraciones Específicas .....	6
	a. Descripción detallada del Proceso o Procedimiento.....	6
	b. Indicaciones.....	8
	1. Indicaciones Absolutas .....	8
	c. Riesgos o complicaciones frecuentes.....	9
	d. Riesgos o complicaciones poco frecuentes .....	9
	e. Contraindicaciones.....	9
VIII.	Recomendaciones .....	9
IX.	Autores, fecha y lugar.....	9
X.	Anexos .....	10
XI.	Bibliografía.....	10

## Guía de Procedimiento de determinación Cuantitativa de Ciclosporina

### I. Título

Determinación cuantitativa de Ciclosporina

### II. Finalidad

El manual de procedimientos operativos estandarizados (POE) tiene por finalidad describir el procedimiento técnico en detalle para determinar cuantitativamente la concentración de Ciclosporina (CsA) en sangre humana total, lo cual permitirá al personal de laboratorio cumplir con un procedimiento de trabajo estandarizado y requerido en la norma NTP-ISO 15189:2014.

### III. Objetivo

Estandarizar los procedimientos pre-analíticos, analíticos y post-analíticos de laboratorio para detectar la concentración de Ciclosporina en sangre total, para el control y adecuado manejo de la terapia con Ciclosporina en pacientes con trasplante de riñón, hígado y corazón.

### IV. Ámbito de aplicación

La presente prueba se aplica en el área de Inmunología especializada del servicio de Patología Clínica, Unidad de soporte al diagnóstico y tratamiento del Instituto Nacional de Salud del Niño San Borja (INSN – SB).

### V. Nombre del Proceso o Procedimiento a Estandarizar y Código CPT

Dosaje de Ciclosporina (CPT: 80158)

### VI. Consideraciones Generales

#### a. Definiciones Operativas

#### 1. Definición del Procedimiento

El ensayo específico de Ciclosporina Emit® 2000 utiliza una técnica de inmunoensayo enzimático homogéneo para el análisis de la ciclosporina en la sangre total. El ensayo contiene anticuerpos monoclonales de ratón con una alta especificidad por la Ciclosporina.

El ensayo se basa en la competencia por los sitios de unión del anticuerpo de ciclosporina. La ciclosporina de la muestra compete con la ciclosporina en el reactivo de enzima B que se marca con la enzima glucosa -6-fosfato deshidrogenasa (G6PDH). La enzima activa no unida convierte la forma oxidada de la nicotinamida adenina dinucleótido (NAD) del reactivo de anticuerpo A en NADH,

Fecha: Marzo 2019	GP-028/INSN-SB/USDXT/PC-V 0.1	Página 3 de 10
-------------------	-------------------------------	----------------

## GUÍA DE PROCEDIMIENTO DE DETERMINACIÓN CUANTITATIVA DE CICLOSPORINA

lo que da lugar a un cambio cinético de la absorbancia que puede medirse espectrofotométricamente. La actividad de la enzima se reduce en función de la unión con el anticuerpo, de tal manera que la concentración de la ciclosporina de la muestra puede medirse en términos de actividad enzimática.

**b. Conceptos Básicos**

- ✓ **Ciclosporina:** Es un medicamento que pertenece al grupo de los inmunosupresores, ya que reduce la acción del sistema inmunitario.
- ✓ **EMIT:** Técnica de inmunoensayo de enzimas multiplicadas, técnica que utiliza anticuerpos para detectar la presencia de drogas en sangre.
- ✓ **Inmunoensayo:** Es un conjunto de técnicas inmunoquímicas analíticas de laboratorio que tienen en común el usar complejos inmunes, es decir los resultantes de la conjugación de anticuerpos y antígenos, como referencias de cuantificación de un analito (sustancia objeto de análisis) determinado.
- ✓ **Antígeno:** Es una sustancia que desencadena la formación de anticuerpos y puede causar una respuesta inmunitaria.
- ✓ **Anticuerpo:** Son glicoproteínas del tipo gamma globulina, los cuales reaccionan contra un antígeno específico.
- ✓ **Enzimas:** Son biomoléculas especializadas en la catálisis de las reacciones químicas que tienen lugar en la célula, son altamente específicos ya que cada uno de ellos induce la transformación de un sólo tipo de sustancia.

**c. Requerimientos Básicos****➤ Equipos Biomédicos**

- Equipo Viva Pro E
- Centrifuga de tubos al vacío
- Centrifuga de mesa de laboratorio para tubos de polipropileno de 2,0 ml capaz de alcanzar 14.000 rpm.
- Agitador Vórtex.
- Refrigerador-congelador de laboratorio

**➤ Material Médico no Fungible**

- Gafas protectoras.
- Micropipeta, 1 canal, 100 ul
- Micropipeta, 1 canal, 200 ul
- Micropipeta, 1 canal, 300 ul
- Portamicropipetas
- Gradilla de microtubos de 1.5-2.0 ml.
- Timer digital de 1 alarma

Fecha: Marzo 2019	GP-028/INSN-SB/USDXT/PC-V 0.1	Página 4 de 10
-------------------	-------------------------------	----------------

## GUÍA DE PROCEDIMIENTO DE DETERMINACIÓN CUANTITATIVA DE CICLOSPORINA

➤ **Material Médico Fungible**• **Reactivos**

- Kit de Reactivo Ciclosporina Emit ® 2000 Contiene: Reactivo A anticuerpo/sustrato y Reactivo de Enzima B.
- Reactivo de pretratamiento de muestras para ciclosporina Emit®2000.
- Calibradores Específicos de Ciclosporina Emit®2000 (0, 50, 100, 200, 50,500 ng/mL).
- Controles de Sangre Total multinivel.

• **Materiales**

- Tubo de extracción de sangre al vacío con EDTA K3, 2ml
- Aguja de extracción de sangre
- Algodón
- Papel absorbente.
- Campo de Trabajo.
- Guantes de Nitrilo.
- Mascarilla médica desechable
- Gorro desechable
- Tubo de microcentrifuga capacidad de 1.5-2.0 ml
- Copas de muestra

• **Soluciones**

- Alcohol medicinal 70°
- Agua destilada o desionizada para lavado del Equipo.
- Hipoclorito sódico (lejía) al 10% para lavado de aguja de muestra.
- Hipoclorito sódico (lejía) al 40% para los contenedores de residuos (eliminación de efluentes).
- Solución de Hidróxido de sodio (NaOH) al 0.1 N para lavado de aguja del reactivo.
- Solución de Ácido clorhídrico (HCL) al 0.1 N para lavado de sistema.

• **Responsables:**

- Médico Patólogo Clínico.
- Tecnólogo Médico con especialidad en Laboratorio Clínico
- Técnico de laboratorio.

Fecha: Marzo 2019	GP-028/INSN-SB/USDXT/PC-V 0.1	Página 5 de 10
-------------------	-------------------------------	----------------

## VII. Consideraciones Específicas

### a. Descripción detallada del Proceso o Procedimiento

Tiempo: 60 minutos

#### a.1. Indicaciones pre-analíticas

1. La orden médica deberá ser entregada a la recepción del servicio de Patología Clínica, con los datos completos del paciente, sello y firma del médico, sello del SIS (si corresponde) (ver anexo 1).
2. Los factores farmacocinéticos influyen en el momento adecuado de toma de muestra, la última dosis del fármaco. Estos factores influyen la dosificación, el modo de administración, el tratamiento farmacológico y las variaciones biológicas que afectan a la farmacocinética.

#### a.2. Toma de muestras, conservación y almacenamiento:

1. La sangre debe recogerse en tubos con anticoagulante EDTA, recomendable como anticoagulante de elección para el ensayo de la ciclosporina en muestra en sangre total. No se recomienda muestras heparinizadas debido a que pueden formarse coágulos durante el almacenamiento.
2. Se requiere un volumen de 100 ul de sangre total para el procesamiento.
3. Utilice muestras recién tomadas. Si las muestras no se van analizar en las 8 hrs posteriores a la toma de muestra, pueden almacenarse a una temperatura ambiente de 18-25°C.
4. A temperatura de refrigeración de 2-8°C pueden almacenarse hasta una semana, para almacenamientos más prolongados las muestras deben congelarse a -20°C.
5. La ciclosporina es estable en muestras de sangre total durante al menos en 3 meses si se conserva a -20°C. Descongelar y mezclar bien las muestras congeladas antes de analizarlas.
6. Debe evitar congelar y descongelar las muestras repetidamente.
7. Al congelarse, en algunas muestras se forman materiales insolubles que deben descartarse al pipetear.
8. Todas las muestras deben manipularse como potencialmente transmisoras de enfermedades. Seguir las normativas de precaución estándar para la manipulación de agentes infecciosos durante todos los procedimientos.

#### a.3. Preparación, almacenamiento y estabilidad de los componentes del ensayo:

1. Los reactivos del Ensayo específico de ciclosporina Emit®2000 se suministran listos para su uso. Cerrar los frascos de los reactivos cuando no se use. Volver

Fecha: Marzo 2019	GP-028/INSN-SB/USDXT/PC-V 0.1	Página 6 de 10
-------------------	-------------------------------	----------------

**GUÍA DE PROCEDIMIENTO DE DETERMINACIÓN CUANTITATIVA DE CICLOSPORINA**

a colocar siempre en sus recipientes originales los tapones de rosca de los reactivos.

2. No congelar el reactivo, ni exponer a temperaturas superiores a 27°C. Los reactivos sin abrir permanecen estables hasta la fecha de caducidad impresa en la etiqueta si se almacenan a una temperatura de 2-8°C. Una vez abiertos permanecen estables durante 12 semanas o hasta la fecha de caducidad impresa en la etiqueta, lo que se produzca antes, siempre y cuando se almacenen verticalmente, herméticamente cerrados a una temperatura de 2-8°C.
3. El almacenamiento incorrecto de reactivos y calibradores puede afectar al rendimiento del ensayo.
4. Si los reactivos adquieren un color amarillo oscuro es que se han deteriorado y deben desecharse.

**a.4. Procedimiento de extracción:**

1. Los calibradores, los controles de sangre total y las muestras de sangre total del paciente se deben extraer con el mismo procedimiento de extracción antes del análisis en los sistemas del instrumento.
2. En un tubo de microcentrífuga agregar 100 µl de sangre total, calibradores o controles más 300 µl reactivo de pretratamiento de muestra.
3. Mezclar y homogenizar con un vórtex e incubar 5 minutos a T.A.
4. Centrifugar 14000rpm x 5min.
5. Medir 200ul de sobrenadante en las copas de muestra y analizar la muestra en el Equipo Viva Pro-E

**a.5. Dilución de muestras de concentraciones elevadas:**

1. Si los análisis de las muestras pre tratadas de un paciente tienen una cantidad superior a 500 ng/mL (416.3 nmol/L) de ciclosporina, la muestra debe diluirse siguiendo los pasos de diluciones:
  - Para muestras concentradas en un tubo de microcentrífuga agregar 100µl de muestra problema más 200µl de muestra negativa y mezclar adecuadamente.
  - Tomar 100ul de la mezcla y proceder como el paso N°2 hasta el paso N°5.

**a.6. Calibración del equipo:**

1. Calibrar cada vez que se utilice un nuevo lote de reactivos, o bien según indiquen los resultados del control de calidad. Pueda que sea necesario volver a calibrar cuando se produzcan cambios significativos en el instrumento (por ejemplo cambios en los sistemas de fotometría y pipeteado) durante el proceso del mantenimiento del equipo.

Fecha: Marzo 2019	GP-028/INSN-SB/USDXT/PC-V 0.1	Página 7 de 10
-------------------	-------------------------------	----------------

**GUÍA DE PROCEDIMIENTO DE DETERMINACIÓN CUANTITATIVA DE CICLOSPORINA**

2. Compruebe que el sistema funcione correctamente siguiendo las instrucciones del manual del operador del instrumento.
3. Realice un pretratamiento de los calibradores específicos de Ciclosporina Emit® 2000 de acuerdo al “Procedimiento de extracción” de la muestra. Los calibradores deben tratarse previamente a las muestras y los controles.
4. Situar los calibradores pre tratados en las ubicaciones adecuadas del analizador.
5. Aceptar la calibración si cada control de dos o tres niveles está dentro de los límites de control.

**a.7. Control de Calidad**

Al menos una vez por día de uso, analizar dos niveles de un material de control de calidad (CC) con concentraciones conocidas de ciclosporina. Seguir los procedimientos internos de CC del laboratorio si los resultados obtenidos se encuentran dentro de los límites aceptables.

**a.8. Interpretación de resultados**

Rango terapéutico en trasplante de Medula ósea:

Nivel C0: 150 – 300 ng/ml

**a.9. Informe de resultados**

1. Los resultados son ingresados al sistema de registros de pacientes del área de Inmunología, por el Tecnólogo Médico de turno y posteriormente impresos.
2. El Médico Patólogo valida los resultados y los ingresa al sistema hospitalario Galenos (solo los resultados de los pacientes del INSN-SB).
3. Los resultados impresos y validados son entregados al personal técnico del Servicio de Patología para su informe según corresponda la procedencia de la solicitud médica:  
A la oficina de Archivos del INSN-SB: los resultados de las solicitudes procedentes de consultorios del INSN-SB.  
Al servicio de hospitalización: los resultados de las solicitudes procedentes de hospitalización.  
Al archivo del Servicio de Patología: los resultados de las solicitudes externas al INSN-SB

**b. Indicaciones****1. Indicaciones Absolutas**

La prueba está indicada para el monitoreo de dosis de ciclosporina en pacientes sometidos a trasplante de progenitores hematopoyéticos, síndrome nefrótico

Fecha: Marzo 2019	GP-028/INSN-SB/USDXT/PC-V 0.1	Página 8 de 10
-------------------	-------------------------------	----------------



## GUÍA DE PROCEDIMIENTO DE DETERMINACIÓN CUANTITATIVA DE CICLOSPORINA

**c. Riesgos o complicaciones frecuentes**

Ninguno

**d. Riesgos o complicaciones poco frecuentes**

Ninguno

**e. Contraindicaciones**

Este ensayo no está previsto para la medición de ciclosporina en suero o plasma.

**VIII. Recomendaciones**

- No usar sangre de catéter venoso central, obtener la muestra solo por punción venosa de sangre periférica.
- No usar sangre entera heparinizada debido a que pueden formar coágulos durante el almacenamiento.

**IX. Autores, fecha y lugar**

Instituto Nacional de Salud del Niño - San Borja  
Laboratorio de Inmunología Especializada-Servicio de Patología Clínica.  
Unidad de Apoyo al Diagnóstico y Tratamiento  
Fecha de Elaboración: Marzo 2019  
Vigencia: 02 años

## Autores:


1. Dr. Emilio Aguilar Huauya
2. Lic. T.M. Yaquelina Chirinos Saire
3. Lic. T.M. Robert Reyna García

eaguilar@insnsb.gob.pe  
ychirinos@insnsb.gob.pe  
rreyna@insnsb.gob.pe

Fecha: Marzo 2019	GP-028/INSN-SB/USDXT/PC-V 0.1	Página 9 de 10
-------------------	-------------------------------	----------------

## GUÍA DE PROCEDIMIENTO DE DETERMINACIÓN CUANTITATIVA DE CICLOSPORINA

**X. Anexos**

 INSTITUTO NACIONAL DE SALUD DEL NIÑO SAN BORJA (INSNB)  
AV. AGUSTIN DE LA ROSA TORO 1399 URB. JACARANDA II SAN BORJA  
TELÉFONO : 51-1-2300600

PATOLOGIA CLINICA (277116)

**ORDEN MEDICA 408946**

N° H.C. : 75295453 Cuenta : 536806 Fecha Solicitud : 14/07/2018 08:46:00a.m Tipo Ate: Hospitalización  
Paciente : AREVALO ANGULO SILENI JOVANNI Procedencia : HOSPITALIZACION ESPEC PEDIATRICAS  
Edad : 7 años 6 meses 29 días Sexo : FEMENINO N° Cama : 5198  
Tipo Plan : SIS N° filac.(240 2 75295453) N° FUA : 20621590 Prof de la Salud : Soto Pardo Pamela  
Resumen H : CMP : 52129  
N° Movimiento : 277116

Diagnóstico : N04.1 SINDROME NEFROTICO, LESIONES GLOMERULARES FOCALES Y SEGMENTARIAS

CodCPT	Cod SIS	Procedimiento	Fecha Programada	Tipó Prov.	Cant.
80158	80158	DOSAJE DE CICLOSPORINA Diag: N04.1 -SINDROME NEFROTICO, LESIONES GLOMERULARES FOCALES Y SEGMENTARIAS Just: paciente con sd nefrotico corticoresistente DEBE LLEGAR UNA HORA ANTES DE SU HORA PROGRAMADA	14/07/2018 08:46:00 a.m.	INSTITUCIONAL*	1

Soto Pardo Pamela  
SELLO Y FIRMA DEL PRESCRIPTOR

YCHIRINOS INSNB-05754 29/09/2018 05:28:49p.m.

Page 1 of 1

**XI. Bibliografía**

1. McMillan MA: Clinical pharmacokinetics of cyclosporin. Pharmac Ther 1989; 42: 135-156.
2. Kahan BD: Cyclosporine. N Engl J Med 1989;321:1725-1738.
3. Keown Paul A: New concepts in cyclosporine monitoring. Current opinion in nephrology and hypertension (England). Nov 2002, 11, (6) p619-26.
4. Oellerich, M et al: Lake Louise consensus Conference on Cyclosporine Monitoring in Organ Transplantation: Report of the Consensus Panel. Therapeutic Drug Monitoring. 17:642-654 1995.
5. Holt David W: Therapeutic drug monitoring of immunosuppressive drugs in kidney transplantation. Current opinion in nephrology and hypertension, Noviembre 2002, 11 (6). P657-663.
6. Levy G A: C2 Monitoring Strategy for Optimising Cyclosporin immunosuppression from the Neoral formulation. Biodrugs – 2001, 15, (5), p279-90.