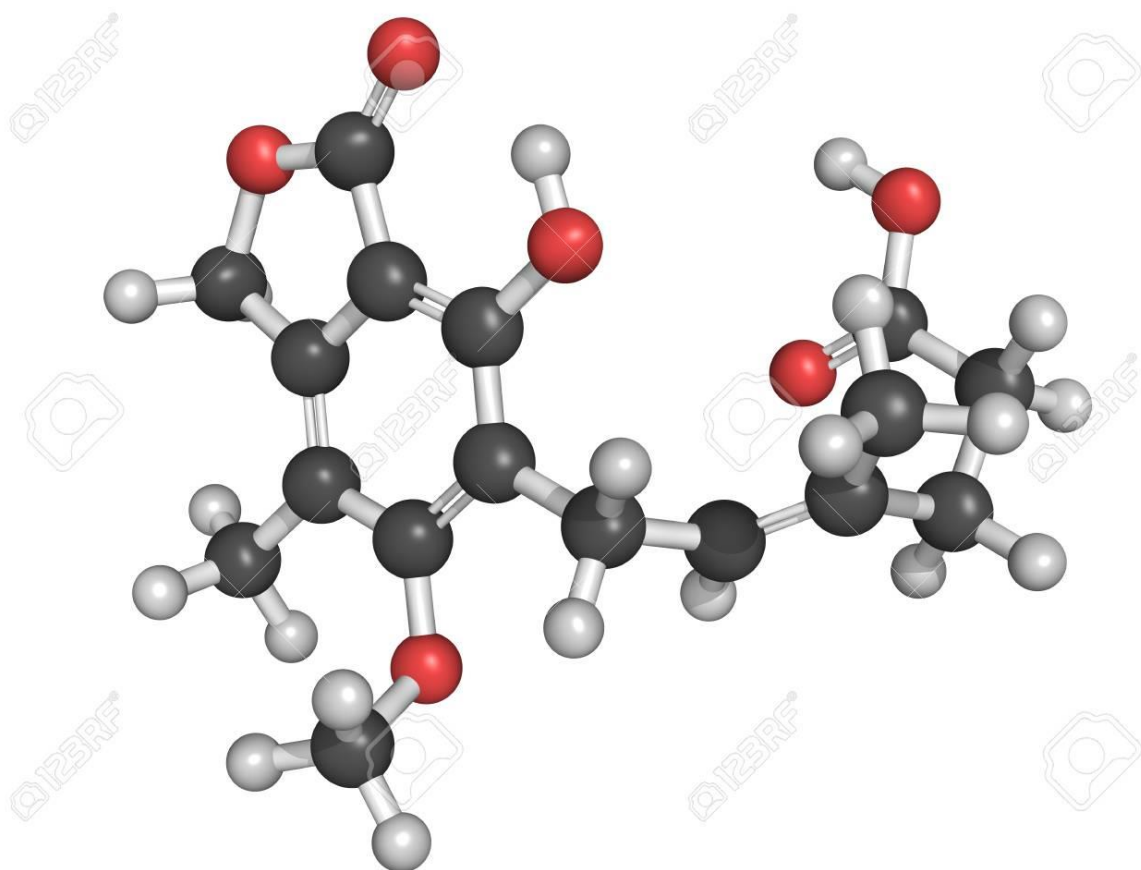


Guía de Procedimiento de determinación Cuantitativa de Ácido Micofenólico

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">• Unidad de Apoyo al Diagnóstico y Tratamiento• Unidad de Gestión de la Calidad	Dr. Antonio Ricardo Zopfi Rubio Director (e) del Instituto Nacional de Salud del - Niño San Borja

Fecha: Marzo 2019	GP - 031/INSN-SB/USDXT-PC/V.01	Página 1 de 10
-------------------	--------------------------------	----------------

Guía de Procedimiento de determinación Cuantitativa de Ácido Micofenólico

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.....	9
	1. Indicaciones Absolutas	9
	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 Ácido Micofenólico

I. Título

Determinación cuantitativa de Ácido micofenólico (MPA).

II. Finalidad

El manual de procedimientos operativos estandarizados (POE) tiene por finalidad describir el procedimiento técnico en detalle para determinar cuantitativamente la concentración de Ácido Micofenólico (MPA) en plasma humana, 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 y analíticos de laboratorio para detectar la concentración de Ácido Micofenólico en plasma humano, como ayuda para el control del tratamiento con micofenolato mofetil en receptores de trasplantes.

IV. Ámbito de aplicación

La presente prueba se aplica en el área de Inmunología especializada en el 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 Micofenolato (ácido micofenólico) (CPT: 80180).

VI. Consideraciones Generales

a. Definiciones Operativas

1. Definición del Procedimiento

La prueba Emit® 2000 para ácido micofenólico utiliza una técnica de inmunoensayo enzimático homogéneo para el análisis del MPA en plasma. Se basa en la competencia por los sitios de unión de los anticuerpos de MPA. El MPA de la muestra compete con el MPA marcado con la enzima glucosa 6-fosfato deshidrogenasa (G6PDH) del reactivo 2 enzimático. La enzima activa (no unida) convierte el dinucleótido de nicotinamida y adenina (NAD) oxidado del reactivo 1 de anticuerpo/sustrato en NADH, lo que produce un cambio en la cinética de absorbancia que se puede medir espectrofotométricamente. La actividad enzimática disminuye con la unión al anticuerpo, lo que permite medir la concentración de MPA en la muestra en términos de actividad enzimática.

b. Conceptos Básicos

- ✓ **Ácido Micofenólico:** El ácido micofenólico o micofenolato es un medicamento inmunosupresor derivado del *Penicillium stoloniferum*, el cual bloquea la síntesis de novo de los nucleótidos de purina mediante la inhibición de la enzima inosina monofosfato deshidrogenasa. En la práctica médica las sustancias que se administran son micofenolato de sodio o micofenolato mofetilo (profármaco), las cuales liberan ácido micofenólico que es la sustancia activa.
- ✓ **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 capaz de alcanzar 3500 rpm
- 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, 200 ul
- Portamicropipetas
- Gradilla de microtubos de 1.5-2.0 ml.
- Timer digital de 1 alarma
- Gradilla de tubos de extracción

GUÍA DE PROCEDIMIENTO DE DETERMINACIÓN CUANTITATIVA DE ÁCIDO MICOFENÓLICO

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

- El kit de reactivo de MPA Emit®2000 contiene: Reactivo 1 anticuerpo/sustrato, Reactivo 2 Agua tipo I y Reactivo 3 Enzima
- Calibradores Emit®2000 de Ácido micofenólico (0, 0.5, 2, 5, 10, 15 ug/mL).
- Controles Emit®2000 de Ácido micofenólico (1, 7.5, 12 ug/mL)
- Agua destilada o desionizada para lavado del Equipo.

• **Materiales**

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

• **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.

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. Recogida, conservación y almacenamiento de las muestras:

1. La muestra de sangre se debe obtener en tubos sin recubrimiento de silicona que contengan el anticoagulante EDTA o heparina.
2. Una vez obtenida la muestra en tubo de EDTA o heparina centrifugar a 3000 rpm x 10 minutos.
3. El mínimo volumen de muestra necesario es de 100 uL de plasma.
4. Si es posible utilice muestras recientes. Las muestras son estables a una temperatura de 2 a 8°C durante máximo de 7 días.
5. Las muestras se pueden almacenar a -20°C durante al menos 11 meses.
6. Las muestras no deben ser expuestas a más de 3 ciclos de congelación y descongelación.
7. Aun no se ha establecido el momento óptimo para la recogida de la muestra. La compleja farmacocinética del metabolismo del MMF, así como el tipo de trasplante, la raza del paciente, el tiempo transcurrido desde el trasplante y los fármacos concomitantes afectan a los niveles plasmáticos del MMPA. El área bajo la curva de concentración (AUC) de 12 horas han demostrado tener el valor predictivo más alto respecto al rechazo.

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

1. Los reactivos del ensayo de Ácido micofenólico Emit®2000 se proporcionan listos para usar. Cierre las botellas de reactivos cuando no las utilice. Vuelva a colocar siempre en sus recipientes originales la tapa de rosca de los reactivos.
2. Si el anticuerpo se vuelve amarillo significa que se ha deteriorado, en cuyo caso debe desecharse junto con los reactivos tampón y de enzima suministrado con dicho anticuerpos.
3. No congele los reactivos ni los exponga a temperatura superior de 32°C. Los reactivos sin abrir permanecen estables hasta la fecha de caducidad impresa

GUÍA DE PROCEDIMIENTO DE DETERMINACIÓN CUANTITATIVA DE ÁCIDO MICOFENÓLICO

en la etiqueta, se almacenan a una temperatura de 2-8°C. Una vez abiertos, los reactivos permanecen estables durante 12 semanas o hasta la fecha de caducidad impresa en la etiqueta, lo que se produzca primero, siempre y cuando se almacenen verticalmente cerrados y a temperatura de 2-8°C.

a.4. Dilución de la muestra:

En caso la muestra a analizar contenga una concentración mayor a la linealidad superior (15 ug/mL), debe realizarse una dilución al medio con el calibrador 1 de 0 ug/mL, esta dilución deberá ser tenida en cuenta a la hora de hacer el reporte y realizar el cálculo correcto del resultado a reportar.

a.5. Calibración:

1. Verifique que el analizador esté funcionando correctamente, siguiendo las instrucciones del manual del operador del instrumento.
2. Acepte la calibración (de 6 concentraciones) si cada control queda dentro de los límites de control.
3. Vuelva a calibrar antes de usar un nuevo lote de reactivos o según lo indiquen los resultados de los controles. Si usa un nuevo juego de reactivos con el mismo número de lote, valide el sistema mediante el análisis de los controles.

a.6. Control de Calidad diario:**Pasos:**

1. Analice cada nivel de control al menos una vez en cada análisis.
2. Verifique cada análisis siguiendo estas instrucciones:
 - Analice cada nivel de control al menos una vez en cada análisis.
 - Verifique cada análisis siguiendo estas instrucciones:
 - Si los controles están dentro de sus límites del control, acepte el conjunto de pruebas.
 - Si cualquier control no está dentro de sus límites de control, examine todos los materiales, verifique que no haya habido errores del operador o mal funcionamiento del instrumento, y vuelva a procesar ese control. Si después de repetir la prueba el control está dentro de sus límites de control, acepte el análisis.
 - Si el control sigue sin estar dentro de sus límites de control, vuelva a calibrar. Si después de hacerlo los controles están dentro de sus límites, acepte el análisis.
 - Si después de volver a calibrar cualquier control no está dentro de sus límites de control, examine todos los materiales, verifique que no haya habido errores del operador o mal funcionamiento del instrumento, y vuelva a procesar ese control. Si después de repetir la prueba el control está dentro de sus límites de control, acepte el análisis.
 - Si después de repetir la prueba control sigue sin estar dentro de sus límites de control, solicite asistencia técnica poniéndose en contacto con Siemens.

a.7. Características Específicas de funcionamiento:

Todos los parámetros de las determinaciones afectan a las características de rendimiento de la prueba Emit® 2000 para ácido micofenólico. La siguiente información representa el rendimiento total del sistema y no debe interpretarse que hace referencia a los reactivos y calibradores.

a.8. Sensibilidad

La sensibilidad de la prueba Emit ®2000 para ácido micofenólico es de 0,1 ug/mg/mL. Esta es la concentración más baja de MPA que se puede diferenciar de 0 ug/mL con una confianza del 95% en plasma humano.

a.9. Especificidad

Se han probado los compuestos cuya estructura química o cuyo uso terapéutico concomitante sugerirían una posible interferencia. No hay interferencia con la cuantificación de 1 ug/mL de MPA con dichos compuestos. Revisar tabla en inserto.

a.10. Sustancias Endógenas

No se han encontrado interferencias en muestras a las cuales se le agregan 1.250 mg/dL de triglicéridos, 20 mg/dL de bilirrubinas, 20 mg/mL de ácido úrico, 500 mg/dL de colesterol o 500 mg/dL de hemoglobina.

a.11. Interpretación de resultados

El rango dinámico de la prueba es de 0,1 ug/mL a 15 ug/mL basándose en la sensibilidad analítica de la prueba y en el nivel más alto del calibrador.

a.12. 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:
4. A la oficina de Archivos del INSN-SB: los resultados de las solicitudes procedentes de consultorios del INSN-SB.
5. Al servicio de hospitalización: los resultados de las solicitudes procedentes de hospitalización.
6. Al archivo del Servicio de Patología: los resultados de las solicitudes externas al INSN-SB.

GUÍA DE PROCEDIMIENTO DE DETERMINACIÓN CUANTITATIVA DE ÁCIDO MICOFENÓLICO

b. Indicaciones**1. Indicaciones Absolutas**

La prueba está indicada para el monitoreo de dosis de ácido micofenólico en pacientes sometidos a trasplante renal.

c. Riesgos o complicaciones frecuentes

Ninguno

d. Riesgos o complicaciones poco frecuentes

Ninguno

e. Contraindicaciones

La prueba Emit® 2000 para ácido micofenólico es para uso diagnóstico in vitro en la determinación de MPA en plasma. Esta prueba no ha sido diseñada para utilizarse en la determinación de MPA en sangre entera.

VIII. Recomendaciones

No usar sangre de catéter venoso central, obtener la muestra solo por punción venosa de sangre periférica.

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 | eaguilar@insnsb.gob.pe |
| 2. Lic. T.M. Yaquelina Chirinos Saire | ychirinos@insnsb.gob.pe |
| 3. Lic. T.M. Robert Reyna García | rreyna@insnsb.gob.pe |

GUÍA DE PROCEDIMIENTO DE DETERMINACIÓN CUANTITATIVA DE ÁCIDO MICOFENÓLICO

X. Anexos



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

ORDEN MEDICA 423072

PATOLOGIA CLINICA (283847)

N° H.C. : 71700394 Cuenta : 565785 Fecha Solicitud : 02/08/2018 10:29:00a.m Tipo Ate: Consultorios Ext

Paciente : FERNANDEZ CUADROS JHOSEP ERIK Procedencia : CONSULTA NEFROLOGÍA - TRASPLANTE

Edad : 13 años 2 meses 17 días Sexo : MASCULINO N° Cama :

Tipo Plan : SIS N° filac.(170 2 71700394) N° FUA : 20641149 Prof de la Salud : Cisneros Mallico Marlene Lourdes

Resumen H : CMP : 043173 N° Movimiento : 283847

Diagnóstico : Z94.0 TRASPLANTE DE RIÑÓN

CodCPT	Cod SIS	Procedimiento	Fecha Programada	Tipò Prov.	Cant.
80180		Dosaje de Micofenolato (ácido micofenólico) Diag: Z94.0 -TRASPLANTE DE RIÑÓN Just: Leucopenia. Seguimiento de niveles en paciente trasplantado. renal DEBE LLEGAR UNA HORA ANTES DE SU HORA PROGRAMADA	15/08/2018 06:30:00 a.m.	INSTITUCIONAL	1

Cisneros Mallico Marlene Lourdes

SELLO Y FIRMA DEL PRESCRIPTOR

YCHIRINOS INSNSB-05754 29/09/2018 05:16:32p.m.

Page 3 of 3

XI. Bibliografía

1. Wallemacq PE, Reding R. A novel immunosuppressant in organ transplantation: clinical, biomedical, and analytical aspects. Clin Chem. 1993;39(11):2219-2228.
2. Laskow DA, Neylan JF III, Shapiro RS, Pirsch JD, Vergne-Marini PJ, Tomlanovich SJ. The role of tacrolimus in adult kidney transplantation: a review. Clin Transplant. 1998;12:489-503.
3. Oellerich M, Armstrong VW, Schutz E, Shaw LM. Therapeutic drug Monitoring of cyclosporine and tacrolimus. Clin Biochem. 1998;31(5):309-316.
4. Jusko WJ, Thomson AW, Fung J, et al. Consensus document: therapeutic drug monitoring of tacrolimus (FK-506). Ther Drug Monit. 1995;17:606-614.
5. Trull AK. Therapeutic Monitoring of tacrolimus. Ann Clin Biochem. 1998;35:167-180.
6. Venkataramanan R, Swaminathan A, Prasad T, et al. Clinical pharmacokinetics of tacrolimus. Clin Pharmacokinet. 1995; 29(6): 404-430.
7. Kelly Pa, Buckart GJ, Venkataramanan R. Tacrolimus: a new immunosuppressive agent. Am J Health Syst Pharm. 1995;52:1521-1535.