

	INSTRUCCIÓN DE TRABAJO PARA LA DETERMINACIÓN DE FENILALANINA NEONATAL	Código: IT-CH-TN-05
		Página 1 de 7
	DIVISIÓN DE SERVICIOS AUXILIARES DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO	Fecha de Revisión: Septiembre 2019
		Versión vigente: 00

ÍNDICE

Pág.

1. ALCANCE:.....	1
2. DOCUMENTOS APLICABLES:.....	1
3. DEFINICIONES:.....	2
4. MATERIAL Y EQUIPO:.....	3
5. DESARROLLO:.....	4
6. ANEXOS:.....	6
7. CONTROL DE CAMBIOS.....	7

1. Alcance:

Desde la recepción de muestra, su procesamiento y obtención del resultado.

2. Documentos Aplicables:

- ° Norma Oficial Mexicana NOM-007-SSA-1993. Atención de la mujer durante el embarazo, parto y puerperio y del recién nacido. Criterios y procedimientos para la prestación del servicio.
- ° Norma Oficial Mexicana NOM-034-SSA2-2013, Para la prevención y control de los defectos al nacimiento.
- ° Norma Oficial Mexicana NOM-087-ECOL-SSA1-2002, Protección ambiental - Salud ambiental - Residuos peligrosos biológico-infecciosos - Clasificación y especificaciones de manejo.
- ° Norma Oficial Mexicana NOM-007-SSA3-2011, Para la organización y funcionamiento de los laboratorios clínicos
- ° IT-CH-TN-03 Instrucción de trabajo para recepción de muestras de tamiz neonatal metabólico.
- ° IT-CH-TN-04 Instrucción de trabajo para el secado y almacenamiento de muestras de tamiz neonatal metabólico
- ° IT-CH-TN-16 Instrucción de trabajo de registro y entrega de resultados de tamiz neonatal metabólico

	Elaboró	Revisó	Autorizó
COPIA NO CONTROLADA	QFB. Emma Elizabeth Casique Contreras <i>EE. Casique</i> Analista de Laboratorio de Tamiz Neonatal	QFB. Leticia Ramírez Vera <i>Leticia Ramírez Vera</i> Jefa de Laboratorio de Tamiz Neonatal	Dr. Santiago López Venegas <i>Santiago López Venegas</i> Jefe de División de Servicios Auxiliares de Diagnóstico y Tratamiento

	INSTRUCCIÓN DE TRABAJO PARA LA DETERMINACIÓN DE FENILALANINA NEONATAL	Código: IT-CH-TN-05
		Página 2 de 7
	DIVISIÓN DE SERVICIOS AUXILIARES DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO	Fecha de Revisión: Septiembre 2019
		Versión Vigente: 00

3. Definiciones:

Tamiz Neonatal: Programa de salud pública que debe realizarse a todos los niños recién nacidos vivos idealmente entre los 2 a 6 días de nacidos y con ingesta de leche, para detectar aquellos aparentemente sanos, pero que ya tienen una enfermedad que con el tiempo podría ocasionar daños graves e irreversibles antes de que estos se manifiesten, con la finalidad de tratarla evitando o aminorando sus consecuencias.

Fenilalanina: Aminoácido, que se encuentra en las proteínas L-fenilalanina, siendo uno de los aminoácidos primordiales para el ser humano. El organismo no puede sintetizarla por sí sola, por lo tanto, se debe aportar al organismo con la variedad de la ingesta de alimentos, ricos en aminoácidos como los lácteos, carnes y pescado. Su función más importante es mantener al cerebro activo con mensajes químicos mediante los neurotransmisores, ayudando así el aprendizaje y la memoria. Es un aminoácido que permanece de por vida en la sangre del ser humano. La fenilalanina tiene su propia vía metabólica, por la cual es capaz de formar un aminoácido muy parecido a ella, la tirosina, gracias a la acción de una enzima, la fenilalanina hidroxilasa (PAH)

Fenilcetonuria: Trastorno del metabolismo de los aminoácidos causados por la carencia de una enzima denominada fenilalanina hidroxilasa, necesarios para descomponer el aminoácido esencial fenilalanina. Sin la enzima, los niveles de fenilalanina se acumulan en el cuerpo y esta acumulación puede dañar el sistema nervioso central y ocasionan daño cerebral.

Ensayo enzimático: Método de ensayo químico para medir la actividad de una enzima específica, o del nivel de una enzima específica, que se usan para evaluar la salud y riesgo de enfermedad, para la detección precoz de enfermedad, o predicción de enfermedad, diagnóstico, y cambio en el estado de la enfermedad.

Muestra sanguínea: Porción de sangre representativa, para realizar el posterior análisis en el laboratorio clínico y conocer la calidad de la misma.

Tarjeta de Guthrie: Papel filtro (SM905) que tiene 6 círculos impresos de 13 mm cada uno, sobre los cuales deben impregnarse con la muestra sanguínea.

Folio: Cada documento tiene un número que lo identifica y diferencia de los documentos similares. Esta numeración individual recibe el nombre de folio

Prueba de Fenilalanina Neonatal: Ensayo enzimático para la determinación cuantitativa de las concentraciones de fenilalanina como ayuda para identificar fenilcetonuria en recién nacidos.

	INSTRUCCIÓN DE TRABAJO PARA LA DETERMINACIÓN DE FENILALANINA NEONATAL	Código: IT-CH-TN-05
		Página 3 de 7
	DIVISIÓN DE SERVICIOS AUXILIARES DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO	Fecha de Revisión: Septiembre 2019
		Versión Vigente: 00

La fenilalanina se extrae del papel filtro (en el cual se encuentra la muestra) con ácido tricloroacético (tampón de elución), se combina con el reactivo enzimático fenilalanina deshidrogenasa. Este reactivo reactivo enzimático cataliza la desaminación oxidativa dependiente de NAD (Nicotinamida adenina dinucleótido) de la fenilalanina a fenilpiruvato y amoniaco. El NADH (Nicotinamida adenina dinucleótido reducida) producido reacciona con un reactivo de color en el que una sal de tetrazolio se reduce produciendo un color distintivo. Este color puede medirse en forma colorimétrica con un fotómetro a 550 nanómetros y es directamente proporcional a la concentración de fenilalanina presente en la muestra.

4. Material y equipo:

- ° Reactivos para determinación de Fenilalanina Neonatal
- ° Perforador de tarjetas
- ° Agitador de placas/incubador
- ° Lector de placas
- ° Microplaca fondo en V o fondo plano
- ° Pipeta automática multicanal (20.0-200.0 µl)
- ° Pipeta automática (20.0-200.0 µl)
- ° Pipeta automática (0.5-5.0 ml)
- ° Puntillas para pipeta automática (de acuerdo al volumen)
- ° Guantes de propileno(sin talco)
- ° Reservorios plásticos
- ° Cronómetro

	INSTRUCCIÓN DE TRABAJO PARA LA DETERMINACIÓN DE FENILALANINA NEONATAL	Código: IT-CH-TN-05
		Página 4 de 7
	DIVISIÓN DE SERVICIOS AUXILIARES DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO	Fecha de Revisión: Septiembre 2019
		Versión Vigente: 00

5. Desarrollo:

No.	Responsables	Descripción de la Actividad
5.1 Preparación del material, reactivos, insumos y equipos		
5.1.1	Químico/Laboratorista	<p>Realiza el acondicionamiento de todos los equipos a utilizar.</p> <p>Realiza evaluación del material y reactivos de laboratorio existentes.</p> <p>Cerciora de contar con el equipo y material necesario para realizar el análisis</p>
5.2 Selección de las muestras		
5.2.1	Químico/Laboratorista	<p>Revisa la N/A Bitácora de Recepción de muestras de Tamiz Neonatal para corroborar cuáles muestras deben analizarse, las saca de su almacenamiento y ordena en base al acomodo por folio de la tarjeta de Guthrie que tienen en la N/A Bitácora de Recepción de Muestras de Tamiz Neonatal</p>
5.3 Realización del ensayo		
5.3.1	Químico/Laboratorista	<p>Realiza cuidadosamente todo lo descrito en el inserto que viene adjunto al kit de reactivos para la prueba.</p> <p>(Ver anexo 1. Técnica resumida para PKU).</p>
5.4 Lectura de la placa / obtención de resultados		
5.4.1	Químico/Laboratorista	<p>Mide la fluorescencia utilizando la longitud de onda de 550 nm.</p>

	INSTRUCCIÓN DE TRABAJO PARA LA DETERMINACIÓN DE FENILALANINA NEONATAL	Código: IT-CH-TN-05
	DIVISIÓN DE SERVICIOS AUXILIARES DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO	Fecha de Revisión: Septiembre 2019 Versión Vigente: 00

5.4.2	Químico/Laboratorista	<table border="1" style="margin-left: auto; margin-right: auto;"> <thead> <tr> <th style="text-align: center;">¿Cumple con resultado esperado?</th> <th style="text-align: center;">Entonces</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td style="text-align: center;">Si</td> <td style="text-align: center;">Continua en 5.4.3</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">No</td> <td style="text-align: center;">Se reanaliza la muestra</td> </tr> </tbody> </table>	¿Cumple con resultado esperado?	Entonces	Si	Continua en 5.4.3	No	Se reanaliza la muestra
		¿Cumple con resultado esperado?	Entonces					
Si	Continua en 5.4.3							
No	Se reanaliza la muestra							
		(Ver anexo 2. Valores de referencia)						
5.4.3	Químico/Laboratorista	Valida los resultados obtenidos por el equipo.						
5.4.4	Químico/Laboratorista	Procesa los resultados obtenidos en base a la IT-CH-TN-16 Instrucción de trabajo de registro y entrega de resultados de tamiz neonatal metabólico						

6. Anexos:

1 Técnica resumida para PKU

PKU
(Zentech)

1) Taladrar calibradores, controles y muestras. Colocando 2 discos de cada uno en cada pocillo. Utilizar placa fondo en V.

	1	2	3	4	5	6	7...
A	C0	C4	1/1000				
B	C0	C4					
C	C1	C5					
D	C1	C5					
E	C2	CTL 1					
F	C2	CTL 1					
G	C3	CTL 2					
H	C3	CTL 2					

2) Agregar 100 µL de Solución de Elución en cada pocillo e incubar con agitación de 900rpm durante 30 minutos. La microplaca con cubierta adhesiva.

3) Durante la incubación reconstituir y preparar solución Enzima –Coenzima de la siguiente manera para una placa:

Nota: Reconstituir la Enzima y Coenzima con agua bidestilada según el volumen que indique el frasco. Es estable durante un mes en refrigeración.

# Pruebas	Enzima (mL)	Coenzima (mL)	Buffer de Dilución (mL)
100	4.0	4.0	2.0

4) Transferir 40 µL de eluido de cada pocillo al pocillo correspondiente de otra placa fondo plano.

5) Agregar 100 µL de la solución Enzima-Coenzima (punto 3) a cada pocillo homogenizando mediante pipeteo, evitando formación de espuma.



INSTRUCCIÓN DE TRABAJO PARA LA DETERMINACIÓN DE FENILALANINA NEONATAL

DIVISIÓN DE SERVICIOS AUXILIARES DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO

Código: IT-CH-TN-05

Página 7 de 7

Fecha de Revisión:
Septiembre 2019

Versión Vigente: 00

PKU (Zentech)

6) Incubar la microplaca durante 30 minutos a temperatura ambiente.

7) Agregar 80 μL de la mezcla de Reactivo de Color a cada pocillo homogenizando mediante pipeteo, evitando formación de espuma.

Preparación de la mezcla de reactivo de Color para una placa:

# Pruebas	Estimulador de color (μL)	Reactivo de color (μL)
100	7,200	800

8) Incubar la microplaca durante 10 minutos protegida de la luz.

9) Lectura a 550nm en modo endpoint.

2 Valores de referencia

Prueba de Fenilalanina	Valores de referencia
Presunto sospechoso	Mayor a 4.2 mg/dL
Presunto negativo	Menor a 4.2 mg/dL

7. Control de Cambios:

Versión Vigente	Fecha	Motivo
00	Septiembre 2019	Alta del documento