

	INSTRUCCIÓN DE TRABAJO PARA LA DETERMINACIÓN DE BIOTINIDASA NEONATAL	Código: IT-CH-TN-06
		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>EC Casique</i> Analista de Laboratorio de Tamiz Neonatal	QFB) Leticia Ramírez Vera <i>Leticia Ramírez Vera</i> Jefe de Laboratorio de Tamiz Neonatal	Dr. Sergio López Venegas <i>Sergio López Venegas</i> Jefe de División de Servicios Auxiliares de Diagnóstico y Tratamiento

	INSTRUCCIÓN DE TRABAJO PARA LA DETERMINACIÓN DE BIOTINIDASA NEONATAL	Código: IT-CH-TN-06
		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.

Biotinidasa: Enzima que cataliza la producción de biotina por hidrólisis de la biotina-amida. Esta codificada por un gen situado en el cromosoma 3. La alteraciones de la biotinidasa produce un déficit de biotina el cual, a su vez, varias enfermedades

Deficiencia de biotinidasa: Trastorno metabólico de herencia autosómica recesiva poco frecuente, cuyo hecho fisiopatológico central radica en una alteración del metabolismo de la biotina que origina una deficiencia múltiple en carboxilasas. Sus consecuencias metabólicas características son debidas al papel que las carboxilasas juegan en la gluconeogénesis, síntesis de ácidos grasos y catabolismo de aminoácidos. Su espectro clínico es amplio e inespecífico, predominando los signos dermatológicos y neurológicos. En la época neonatal se manifiesta, generalmente, con hipotonía muscular, convulsiones, ataxia y retraso del desarrollo, y con menos frecuencia, aparecen síntomas como déficit auditivo, dermatitis, alopecia, atrofia óptica e inmunodeficiencia. También se ha sugerido su papel en el síndrome de muerte súbita infantil. Suele acompañarse de acidosis láctica con cetosis

Enzimas: Biomoléculas especializadas en la catálisis de las reacciones químicas que tienen lugar en la célula. Son muy eficaces como catalizadores de las reacciones químicas, son altamente específicos ya que cada una de ellas induce la transformación de un sólo tipo de sustancia y no de otras que se puedan encontrar en el medio de reacción.

Ensayo enzimático: Son métodos de ensayo químico para medir actividades enzimáticas para determinar la deficiencia o aumento de las mismas.

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

	INSTRUCCIÓN DE TRABAJO PARA LA DETERMINACIÓN DE BIOTINIDASA NEONATAL	Código: IT-CH-TN-06
		Página 3 de 7
	DIVISIÓN DE SERVICIOS AUXILIARES DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO	Fecha de Revisión: Septiembre 2019
		Versión Vigente: 00

Solución amortiguadora/ buffer/ tamponada: Solución reguladora o tampón, está formada por un ácido o base débil y su par conjugado correspondiente, ésta combinación tiene la capacidad de minimizar el efecto de la adición o eliminación de H⁺ del medio, es decir se opone a las grandes variaciones del pH en una solución acuosa.

Prueba de Biotinidasa Neonatal: Ensayo enzimático para la determinación cuantitativa de la actividad de biotinidasa en recién nacidos.

La biotinidasa se extrae de la muestra con una solución tamponada que contiene el ácido 4 amidobenzoico libre (PABA) de B-PAB. La reacción se detiene mediante el ácido tricloroacético que desnaturaliza la biotinidasa. Entonces se inicia la reacción de color: el PABA producido reacciona con el nitrato sódico para formar un compuesto diazotado (el nitrato en exceso se neutraliza con el sulfamato de amonio); después de ello, el compuesto diazotado reacciona con el NED (N-naftiletilendiamina) para formar el azo tinte. El color púrpura producido puede medirse de forma colorimétrica con un fotómetro a 550nm y es directamente proporcional a la actividad de la biotinidasa presente en la muestra.

4. Material y equipo:

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

	INSTRUCCIÓN DE TRABAJO PARA LA DETERMINACIÓN DE BIOTINIDASA NEONATAL	Código: IT-CH-TN-06
		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	Realiza el acondicionamiento de todos los equipos a utilizar.						
5.1.2	Químico/ Laboratorista	Realiza evaluación del material y reactivos de laboratorio existentes.						
5.1.3	Químico/ Laboratorista	Cerciora de contar con el equipo y material necesario para realizar el análisis						
5.2 Selección de las muestras								
5.2.1	Químico/ Laboratorista	Revisa la N/A Bitácora de Recepción de muestras de Tamiz Neonatal para corroborar cuáles muestras deben analizarse, las saca de su almacenamiento y las ordena en base al acomodo por folio de la tarjeta de Guthrie que tiene en la N/A Bitácora de Recepción de Muestras de Tamiz Neonatal.						
5.3 Realización del ensayo								
5.3.1	Químico/ Laboratorista	Realiza cuidadosamente todo lo descrito en el inserto que viene adjunto al kit de reactivos para la prueba. (Ver anexo 1. Técnica resumida para Biotinidasa)						
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, en un periodo máximo 10 minutos posteriores del termino del ensayo.</p> <table border="1" style="margin-left: auto; margin-right: auto;"> <thead> <tr> <th>¿Resultados de controles dentro de rango?</th> <th>Entonces</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td style="text-align: center;">Si</td> <td>Continúa con 5.4.2</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">No</td> <td>Se reanalizan la muestra</td> </tr> </tbody> </table>	¿Resultados de controles dentro de rango?	Entonces	Si	Continúa con 5.4.2	No	Se reanalizan la muestra
¿Resultados de controles dentro de rango?	Entonces							
Si	Continúa con 5.4.2							
No	Se reanalizan la muestra							



**INSTRUCCIÓN DE TRABAJO PARA LA DETERMINACIÓN
DE BIOTINIDASA NEONATAL**

Código: IT-CH-TN-06

Página 5 de 7

Fecha de Revisión:
Septiembre 2019

**DIVISIÓN DE SERVICIOS AUXILIARES DE DIAGNÓSTICO
Y TRATAMIENTO**

Versión Vigente: 00

		(Ver anexo 2. Valores de referencia)
5.4.2	Químico / Laboratorista	Valida los resultados obtenidos por el equipo.
5.4.3	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



INSTRUCCIÓN DE TRABAJO PARA LA DETERMINACIÓN DE BIOTINIDASA NEONATAL

DIVISIÓN DE SERVICIOS AUXILIARES DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO

Código: IT-CH-TN-06

Página 6 de 7

Fecha de Revisión:
Septiembre 2019

Versión Vigente: 00

6. Anexos:

1. Técnica resumida para Biotinidasa

BIOTINIDASA							
(Zentech)							

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

	1	2	3	4	5	6	7
1	CO	C4	100µL				
2	CO	C4					
3	C1	C5					
4	C1	C5					
5	C2	CTL 1					
6	C2	CTL 1					
7	C3	CTL 2					
8	C3	CTL 2					

2) Agregar 100 µL de Solución Tamponada de Sustrato en cada pocillo e incubar con agitación de 900rpm durante 10 minutos. Tapar con cubierta adhesiva. Incubar toda la noche (16-18h) a 37°C.

Nota: Cada vial de Solución Tamponada de Sustrato se hidrata previamente con 5 ml de agua destilada o con el volumen que indique el vial.
Son dos viales de 5ml por cada microplaca

3) Agregar 60 µL de Solución de Paro (Ác. Tricloroacético) a cada pocillo. La solución debe estar fría para optimizar el precipitado.
Nota: Asegurar este paso sea lo más breve posible para no afectar linealidad.

4) Agitar la microplaca durante 5 minutos a 1,200 rpm a temperatura ambiente.

5) Transferir 60 µL de eluido de cada pocillo al pocillo correspondiente de otra placa fondo plano.
Nota: Tomar el eluido por la pared del pocillo para evitar transferir precipitado.

6) Agregar 30 µL de Reactivo de Color #1 a cada pocillo e incubar durante 3 minutos a temperatura ambiente.

7) Agregar 30 µL de Reactivo de Color # 2 a cada pocillo e incubar durante 3 minutos a temperatura ambiente.

8) Agregar 30 µL de Reactivo de Color # 3 a cada pocillo e incubar durante 10 minutos a temperatura ambiente

9) Lectura a 550nm. Máximo 10 minutos después.



INSTRUCCIÓN DE TRABAJO PARA LA DETERMINACIÓN DE BIOTINIDASA NEONATAL

Código: IT-CH-TN-06

Página 7 de 7

Fecha de Revisión:
Septiembre 2019

DIVISIÓN DE SERVICIOS AUXILIARES DE DIAGNÓSTICO
Y TRATAMIENTO

Versión Vigente: 00

2 Valores de referencia

Prueba de Biotinidasa	Valores de referencia
Presunto negativo	Mayor a 70 $\mu\text{mol/dL}$
Deficiencia parcial	De 7 a 26 $\mu\text{mol/dL}$
Presunto sospechoso	Menor a 7 $\mu\text{mol/dL}$

7. Control de Cambios:

Versión Vigente	Fecha	Motivo
00	Septiembre 2019	Alta del documento