

	<b>INSTRUCCIÓN DE TRABAJO PARA LA DETERMINACIÓN DE LA PRUEBA GLÚCOSA 6 FOSFATO DESHIDROGENASA NEONATAL</b>	Código: IT-CH-TN-08
		Página 1 de 7
	<b>DIVISIÓN DE SERVICIOS AUXILIARES DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO</b>	Fecha de Revisión: Septiembre 2019

## 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 Ramirez Vera <i>Leticia Ramirez Vera</i> Jefe de Laboratorio de Tamiz Neonatal	Dr. Sergio López Venegas <i>Sergio Lopez Venegas</i> Jefe de División de Servicios Auxiliares de Diagnóstico y Tratamiento

	<b>INSTRUCCIÓN DE TRABAJO PARA LA DETERMINACIÓN DE LA PRUEBA GLÚCOSA 6 FOSFATO DESHIDROGENASA NEONATAL</b>	Código: IT-CH-TN-08
		Página 2 de 7
	<b>DIVISIÓN DE SERVICIOS AUXILIARES DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO</b>	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.

**Glúcosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PD):** Es la primera enzima de la vía pentosa fosfato y la principal fuente intracelular de nicotidamina adenina dinucleótido fosfato reducido (NADPH), compuesto comprometido en diversos procesos fisiológicos, por ejemplo defensa antioxidante (sobre todo células como los eritrocitos), modulación del crecimiento endotelial, eritropoyesis, vascularización y fagocitosis.

**Deficiencia de G6PD:** Enzimopatía ligada al cromosoma X más común en el ser humano y el quinto defecto más común a nivel mundial. Si bien se puede presentar en cualquier tipo de célula, su carencia absoluta es incompatible con la vida. Se caracteriza por ictericia neonatal (esta enfermedad es asintomática hasta que el portador entra en contacto con una sustancia de poder oxidante), anemia hemolítica aguda y autolimitada y favismo.

**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.

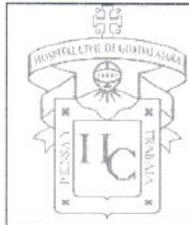
**Ensayo enzimático:** Son métodos de ensayo químico para medir actividades enzimáticas para determinar la deficiencia o aumento de las mismas.

**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

**Solución amortiguadora:** 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



**INSTRUCCIÓN DE TRABAJO PARA LA DETERMINACIÓN  
DE LA PRUEBA GLÚCOSA 6 FOSFATO  
DESHIDROGENASA NEONATAL**

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

Código: IT-CH-TN-08

Página 3 de 7

Fecha de Revisión:  
Septiembre 2019

Versión Vigente: 00

o eliminación de H<sup>+</sup> del medio, es decir se opone a las grandes variaciones del pH en una solución acuosa.

**Prueba de Glúcosa 6 Fosfato Deshidrogenasa** : Metodo enzimático colorimétrico para la determinación de la actividad cuantitativa de la glucosa 6 fosfato deshidrogenasa.

Se eluye la muestra con una solución tampón y ésta contiene Glucosa 6 fosfato deshidrogenasa, se incuba con un reactivo que en la presencia de NADP, cataliza la oxidación de la glucosa 6 fosfato deshidrogenasa a 6 fosfogluconato. La NDAPH producida reacciona con un reactivo de color donde una sal de tetrazolio es reducida produciendo un color distintivo.

Ese color se mide a 550nm y es directamente proporcional a la concentración de Glucosa 6 fosfato deshidrogenasa presente en la muestra.

#### **4. Material y equipo:**

- ° Reactivos y controles para la determinación de Glúcosa 6 Fosfato Deshidrogenasa 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

	<b>INSTRUCCIÓN DE TRABAJO PARA LA DETERMINACIÓN DE LA PRUEBA GLÚCOSA 6 FOSFATO DESHIDROGENASA NEONATAL</b>	Código: IT-CH-TN-08
		Página 4 de 7
	<b>DIVISIÓN DE SERVICIOS AUXILIARES DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO</b>	Fecha de Revisión: Septiembre 2019
		Versión Vigente: 00

## 5. Desarrollo:

No.	Responsables	Descripción de la Actividad
<b>5.1 Preparación del material, reactivos, insumos y equipos</b>		
5.1.1	Químico/ Laboratorista	<ul style="list-style-type: none"> <li>Realiza el acondicionamiento de todos los equipos a utilizar.</li> <li>Realiza evaluación del material y reactivos de laboratorio existentes.</li> <li>Cerciora de contar con el equipo y material necesario para realizar el análisis</li> </ul>
<b>5.2 Selección de las muestras</b>		
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 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.</p>
<b>5.3 Preparación del ensayo</b>		
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 Glucosa 6 fosfato deshidrogenasa).</p>

	<b>INSTRUCCIÓN DE TRABAJO PARA LA DETERMINACIÓN DE LA PRUEBA GLÚCOSA 6 FOSFATO DESHIDROGENASA NEONATAL</b>	Código: IT-CH-TN-08
		Página 5 de 7
	<b>DIVISIÓN DE SERVICIOS AUXILIARES DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO</b>	Fecha de Revisión: Septiembre 2019
		Versión Vigente: 00

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> <table border="1" data-bbox="724 663 1386 890"> <thead> <tr> <th>¿Resultado de controles dentro de rango?</th> <th>Entonces</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Si</td> <td>Continúa en 5.4.2</td> </tr> <tr> <td>No</td> <td>Se reanaliza la muestra</td> </tr> </tbody> </table> <p>(Ver anexo 2. Valores de referencia)</p>	¿Resultado de controles dentro de rango?	Entonces	Si	Continúa en 5.4.2	No	Se reanaliza la muestra
¿Resultado de controles dentro de rango?	Entonces							
Si	Continúa en 5.4.2							
No	Se reanaliza la muestra							
5.4.2	Químico/ Laboratorista	Valida los resultados						
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 LA PRUEBA GLÚCOSA 6 FOSFATO DESHIDROGENASA NEONATAL**

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

Código: IT-CH-TN-08  
 Página 6 de 7  
 Fecha de Revisión: Septiembre 2019  
 Versión Vigente: 00

**6. Anexos:**

**1. Técnica resumida para Glucosa 6 fosfato deshidrogenasa.**

**G6PD**  
(Zentech)

1) Taladrar controles (Normal, intermedio, deficiente) y muestras. Capacidad para 90 muestras.

**Nota:** Taladrar un disco de control, colocarlo en su pocillo correspondiente y dejar el siguiente pocillo vacío:

	1	2	3	4	5	6	7...
A	Ctl N	100%					
B		100%					
C	Ctl I						
D							
E	Ctl D						
F							
G	100%						
H	100%						

2) Agregar 75 µL de Solución de Elución en cada pocillo e incubar a temperatura ambiente durante 30 minutos con agitación de 900 rpm. La microplaca con cubierta adhesiva.

3) Transferir 15 µL del eluido a otra microplaca en fondo plano.

**Nota:** No olvidar realizar dos transferencias de 15 µL del eluido de cada control, una para el pocillo donde se encuentra y el segundo pocillo vacío.

4) Agregar 75 µL de Reactivo RCNS a cada pocillo (sin pipeteo en reversa) y homogenizar en el mismo pocillo mediante pipeteo.

**Nota:** Reconstituir el Reactivo con 20 ml de agua destilada o con el volumen que indique el frasco, agitar suavemente con la mano para no generar espuma. Solo cuando es nuevo.



**INSTRUCCIÓN DE TRABAJO PARA LA DETERMINACIÓN  
DE LA PRUEBA GLÚCOSA 6 FOSFATO  
DESHIDROGENASA NEONATAL**

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

Código: IT-CH-TN-08
Página 7 de 7
Fecha de Revisión: Septiembre 2019
Versión Vigente: 00

**G6PD**  
(Zentech)

5) Agregar 75 µL de la Mezcla de Reactivo de Color a cada pocillo, teniendo cuidado de que la puntilla no toque la muestra.

Preparación de la Mezcla de Reactivo de Color (1:10) para una placa:

7,200 µL Color Reagent  
+ 800 µL Color Booster  
8,000 µL Mezcla Reactivo de Color

6) Lectura a 550nm. Cinética enzimática: 15 lecturas, 1/min y punto final.

**2.- valores de referencia**

Prueba de G6PD	Valores de referencia
Presunto sospechoso	Menor a 2.3 U/gHb
Presunto negativo	Mayor a 2.3 U/gHb

**7. Control de Cambios:**

Versión Vigente	Fecha	Motivo
00	Septiembre 2019	Alta del documento