

	INSTRUCCIÓN DE TRABAJO PARA LA DETERMINACIÓN DE 17α-OH-PROGESTERONA NEONATAL	Código: IT-CH-TN-10
		Página 1 de 7
		Fecha de Revisión: Septiembre 2019
	DIVISIÓN DE SERVICIOS AUXILIARES DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO	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:

Esta instrucción de trabajo aplica desde la recepción de la 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> 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 17α-OH-PROGESTERONA NEONATAL	Código: IT-CH-TN-10
		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.

Hiperplasia adrenal congénita: Grupo de enfermedades hereditarias autosómicas recesivas por la deficiencia de una de las cinco enzimas que se requieren para la síntesis de cortisol en la corteza adrenal, correspondiendo en el 95% de los casos a la deficiencia de la enzima 21-hidroxilasa citocromo P450C21 (21-OH), la cual compromete la biosíntesis del cortisol y aldosterona en mayor o menor grado, provocando la elevación anormal de su sustrato esteroideo 17-OHP y la de andrógenos adrenales. La enfermedad se caracteriza por deficiencia de cortisol, acompañada o no de falla en la producción de aldosterona y un exceso de andrógenos adrenales.

Inmunoensayo: Ensayos basados en las uniones de proteínas específicas que se basan en la alta especificidad y afinidad de la reacción de reconocimiento entre un anticuerpo y el determinante de un antígeno.

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

Buffer / tampón: Solución reguladora, buffer 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.

	INSTRUCCIÓN DE TRABAJO PARA LA DETERMINACIÓN DE 17α-OH-PROGESTERONA NEONATAL	Código: IT-CH-TN-10
		Página 3 de 7
	DIVISIÓN DE SERVICIOS AUXILIARES DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO	Fecha de Revisión: Septiembre 2019
		Versión Vigente: 00

Prueba 17 α -OH-progesterona Neonatal (17-OHP): Inmunoensayo enzimático para la determinación cuantitativa de 17 α -OH-progesterona neonatal. Esta es un prueba competitiva, donde la microplaca esta cubierta con un anticuerpo anti 17-OHP que atarapa la 17-OHP presente en la muestra. Las muestras de sangre se incuban con el tampón de extracción en un agitador a temperatura ambiente por una hora antes de la incubación durante toda la noche a 4°C. El tampón de extracción contiene una molécula de 17-OHP conjugada con peroxidasa de rabano (HRP). El conjugado de peroxidasa 17-OHP compite con la 17-OHP presente en la muestra.

Se forman los siguientes complejos:

anti-OHP*17-OHP de conejo en la muestra --- conjugado de peroxidasa anti 17-OHP*17-OHP de conejo

Despues del lavado, el complejo inmune se detecta por la reducción de la 3,3'-5,5'-tetrametilbenzidina (TMB) por HRP. El desarrollo de un color azul es inversamente proporcional a la cantidad de antígeno en la muestra o calibrador. La reacción enzimática se detiene agregando ácido sulfúrico y se lee la absorbancia a 450nm.

4. Material y equipo:

- ° Reactivos y controles para la determinación de 17 α -OH-Progesterona Neonatal
- ° Perforador de tarjetas
- ° Lavador de placas
- ° Agitador de placas /incubador
- ° Lector de placas
- ° Pipetas automáticas multicanal (20.0-200.0 μ l)
- ° Pipetas automática (0.5-5.0 ml)
- ° Pipetas automática (20.0-200.0 μ l)
- ° Puntillas para pipeta automática (de acuerdo al volumen)
- ° Guantes de propileno (sin talco)
- ° Reservorios
- ° Cronómetro

	INSTRUCCIÓN DE TRABAJO PARA LA DETERMINACIÓN DE 17α-OH-PROGESTERONA NEONATAL	Código: IT-CH-TN-10
		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	<ul style="list-style-type: none"> Realiza el acondicionamiento de todos los equipos a utilizar. Realiza evaluación del material y reactivos de laboratorio existentes. 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 17 α -OH-Progesterona Neonatal).						
5.4 Lectura de la placa / obtención de resultados								
5.4.1	Químico / Laboratorista	<p>Mide la fluorescencia utilizando la longitud de onda de 450 nm, máximo 15 minutos después de terminado el ensayo.</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>¿Resultados de controles dentro de rango?</th> <th>Entonces</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Sí</td> <td>Continua en 5.4.2</td> </tr> <tr> <td>No</td> <td>Se reanalizan las muestras</td> </tr> </tbody> </table> <p>(Ver anexo 2. Valores de referencia)</p>	¿Resultados de controles dentro de rango?	Entonces	Sí	Continua en 5.4.2	No	Se reanalizan las muestras
¿Resultados de controles dentro de rango?	Entonces							
Sí	Continua en 5.4.2							
No	Se reanalizan las muestras							

	INSTRUCCIÓN DE TRABAJO PARA LA DETERMINACIÓN DE 17α-OH-PROGESTERONA NEONATAL	Código: IT-CH-TN-10
		Página 5 de 7
	DIVISIÓN DE SERVICIOS AUXILIARES DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO	Fecha de Revisión: Septiembre 2019
		Versión Vigente: 00

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 17 α -OH-PROGESTERONA NEONATAL

Código: IT-CH-TN-10

Página 6 de 7

Fecha de Revisión:
Septiembre 2019

DIVISIÓN DE SERVICIOS AUXILIARES DE DIAGNÓSTICO
Y TRATAMIENTO

Versión Vigente: 00

6. Anexos:

1.- Técnica resumida para 17 α -OH-Progesterona Neonatal

17 OHP (Zentech)

- 1) Perforar controles, calibradores y muestras en placa recubierta.
- 2) Agregar 200 μ L de Solución de Extracción Diluido a cada pocillo. Tapar con cubierta adhesiva.

Preparación de Solución de Extracción (1:100) para una placa:

19,800 μ L Sol'n Extracción
<u>200 μL Ac. Conjugado</u>
20,000 μ L Sol'n Extracción

- 3) Incubar la placa durante 1 hora con agitación de 900rpm a temperatura ambiente. Con cubierta adhesiva
- 4) Incubar la placa durante 18 horas en refrigeración. Con cubierta adhesiva
- 5) Sacudir la placa y quitar discos de muestras. No olvidar rotular cada tira
- 6) Lavar la microplaca 4 veces con 300 μ L cada pocillo.

Preparación de Solución de lavado (1:10) para una placa:

20 mL Sol'n Wash
<u>180 mL Agua destilada</u>
200 mL de Sol'n de Lavado

- 7) Agregar a cada pocillo 100 μ L de TMB (Sacar el frasco sólo cuando se vaya a utilizar).
- 8) Incubar la placa durante 10 minutos a temperatura ambiente y protegido de la luz.
- 9) Agregar 100 μ L de Solución de paro (H₂SO₄)
- 10) Realizar lectura de placa a 450 nm. Máximo 15 min después.

	INSTRUCCIÓN DE TRABAJO PARA LA DETERMINACIÓN DE 17α-OH-PROGESTERONA NEONATAL	Código: IT-CH-TN-10
		Página 7 de 7
	DIVISIÓN DE SERVICIOS AUXILIARES DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO	Fecha de Revisión: Septiembre 2019
		Versión Vigente: 00

2.-valores de referencia

Prueba de 17 α OH P	Valores de referencia
Presunto sospechoso	Mayor a 58.4 ng/mL
Presunto negativo	Menor a 58.4 ng/mL

7. Control de Cambios:

Versión Vigente	Fecha	Motivo
00	Septiembre 2019	Alta del documento