	INSTRUCCIÓN DE TRABAJO PARA LA DETERMINACIÓN DE GALACTOSA TOTAL NEONATAL	Código: IT-CH-TN-07
		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:

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> 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 GALACTOSA TOTAL NEONATAL	Código: IT-CH-TN-07
		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.

Galactosa: Monosacárido de seis átomos de carbono que forma parte importante de la dieta de la especie humana desde el nacimiento. En forma de lactosa se halla presente en la leche de los mamíferos; en forma de galactosa soluble, o ligada con enlaces tipo β en ciertas legumbres, verduras y frutas; en forma de galactósidos ligada con enlaces tipo α en polisacáridos de origen vegetal; y en forma de galactocerebrósidos y gangliósidos en algunas vísceras de animales.


Galactosemia: Enfermedad autosómica recesiva caracterizada por la reducida capacidad de convertir galactosa de la dieta en glucosa, debido a la deficiencia de alguna de las tres enzimas necesarias para la canalización de esta conversión (galactocinasa, galactosa 1-fosfato uridiltransferasa [GALT], uridindifosfato galactosa epimerasa [UDP]), aunque la mayoría de los casos son resultado de la deficiencia de GALT. Los síntomas generalmente aparecen en los primeros días o semanas de vida y puede ser mortal debido a que causa hepatotoxicidad aguda, diátesis hemorrágica y predisposición a sepsis por *Escherichia coli*. Mediante un mecanismo desconocido, la acumulación de galactosa-1-fosfato causa daño cerebral, aminoaciduria y lesiones del hígado en la forma de un proceso cirrótico y de crecimiento. Puede presentarse ictericia hacia la segunda semana de vida y, después de la lesión del hígado, se produce esplenomegalia, secundaria a la hipertensión portal. En los casos no tratados, se presentan cataratas reconocibles hacia el primero o segundo mes.

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: Método 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.

	INSTRUCCIÓN DE TRABAJO PARA LA DETERMINACIÓN DE GALACTOSA TOTAL NEONATAL	Código: IT-CH-TN-07
		Página 3 de 7
	DIVISIÓN DE SERVICIOS AUXILIARES DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO	Fecha de Revisión: Septiembre 2019
		Versión Vigente: 00

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

Prueba de Galactosa Total Neonatal: Ensayo enzimático para la determinación cuantitativa de la concentración de galactosa total. La galactosa total (galactosa y galactosa 1-fosfato) se extrae de la muestra con ácido tricloroacético. Después de eluída se mezcla se mezcla con el reactivo enzima-coenzima que contiene fosfatasa alcalina (FA), galactosa deshidrogenasa (GaldeH) y NAD (Nicotinamida adenina dinucleótido). La galactosa 1-fosfato se convierte en galactosa por la FA. GaldeH oxida la galactosa transformándola en galactonolactona, reduciendo el NAD a NADH.

El NADH producido reacciona con un reactivo de color donde una sal de tetrazolio es reducida produciendo un color característico. Este color puede medirse en forma colorimétrica con un fotómetro a 550nm y es directamente proporcional a la concentración de galactosa total presente en la muestra.


4. Material y equipo:

- ° Reactivos para la determinación de Galactosa Total Neonatal
- ° Perforador de tarjetas
- ° Agitador de placas
- ° 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 GALACTOSA TOTAL NEONATAL	Código: IT-CH-TN-07
		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 Galactosa total).						
5.4 Lectura de la placa / obtención de resultado								
5.4.1	Químico/ Laboratorista	<p>Mide la fluorescencia utilizando la longitud de onda de 550 nm.</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 style="text-align: center;">Continúa en 5.4.2</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">No</td> <td style="text-align: center;">Se reanaliza la muestra</td> </tr> </tbody> </table> <p>(Ver anexo 2. Valores de referencia)</p>	¿Resultados de controles dentro de rango?	Entonces	Si	Continúa en 5.4.2	No	Se reanaliza la muestra
¿Resultados de controles dentro de rango?	Entonces							
Si	Continúa en 5.4.2							
No	Se reanaliza la muestra							

	INSTRUCCIÓN DE TRABAJO PARA LA DETERMINACIÓN DE GALACTOSA TOTAL NEONATAL	Código: IT-CH-TN-07
		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 GALACTOSA TOTAL NEONATAL

Código: IT-CH-TN-07

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 Galactosa Total.

GALACTOSA TOTAL

(Zentech)

- 1) Perforar controles, calibradores y muestras (3mm) en placa de fondo plano o V.
- 2) Agregar a cada pocillo 100 µL de Solución de Elución y cubrir la placa con la cubierta adhesiva.
- 3) Incubar la placa durante 30 minutos con agitación de 900rpm a temperatura ambiente.
- 4) Transferir 40 µL del eluido a otra placa de fondo plano.
- 5) Agregar 100 µL de Solución Enzima –Coenzima (ECS), que se prepara de la siguiente manera para UNA placa:
Mezclar la solución con la muestra mediante pipeteo en la misma placa evitando generar espuma.

Núm. Pruebas	Enzima I (µL)	Enzima II (µL)	Coenzima I (mL)	Tampón de dilución (mL)
100	93	465	4.65	4.65

- 6) Incubar la placa durante 30 minutos a temperatura ambiente cubierta adhesiva y sin agitar.
- 7) Agregar a cada pocillo 80 µL de mezcla de Reactivo de Color (CRM), que se prepara de la siguiente manera para UNA placa (1:10):
Mezclar la solución con la muestra mediante pipeteo en la misma placa evitando generar espuma.
Nota: Sacar de refrigeración los viales de color hasta su uso.

7,200 µL Color Reagent
+ 800 µL Color Booster
8,000 µL mezcla CRM

- 8) Incubar la placa a temperatura ambiente durante 10 minutos y protegida de la luz.
- 9) Realizar lectura de placa a 550 nm. (Colorimétrica)



INSTRUCCIÓN DE TRABAJO PARA LA DETERMINACIÓN DE GALACTOSA TOTAL NEONATAL

DIVISIÓN DE SERVICIOS AUXILIARES DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO

Código: IT-CH-TN-07

Página 7 de 7

Fecha de Revisión:
Septiembre 2019

Versión Vigente: 00

2. Valores de referencia

Prueba de Galactosa	Valores de referencia
Presunto negativo	Menor a 10.0 mg/dl
Presunto sospechoso	Mayor a 10.0 mg/dl

7. Control de Cambios:

Versión Vigente	Fecha	Motivo
00	Septiembre 2019	Alta del documento