	INSTRUCCIÓN DE TRABAJO PARA LA DETERMINACIÓN DE LA HORMONA ESTIMULANTE DE LA TIROIDES NEONATAL (TSH)	Código: IT-CH-TN-09
	DIVISIÓN DE SERVICIOS AUXILIARES DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO	Página 1 de 7 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:

Esta instrucción de trabajo aplica 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-038-SSA2-2002, Para la prevención, tratamiento y control de las enfermedades por deficiencia de yodo.
- ° 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.

	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 LA HORMONA ESTIMULANTE DE LA TIROIDES NEONATAL (TSH)	Código: IT-CH-TN-09
		Página 2 de 7
	DIVISIÓN DE SERVICIOS AUXILIARES DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO	Fecha de Revisión: Septiembre 2019
		Versión Vigente: 00

° 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

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.

Hipotiroidismo congénito: Enfermedad endócrina caracterizada por la insuficiencia en la síntesis de hormonas tiroideas, causando efectos devastadores en el crecimiento y desarrollo, retraso en el desarrollo neurológico, espasticidad, alteraciones en la marcha y coordinación motora.

Hormona: Agente químico que produce un efecto específico sobre otros órganos. Las hormonas son producidas por glándulas del cuerpo.

Hormona estimulante de la tiroides (TSH) o tirotrópina: Hormona producida por la glándula pituitaria que estimula la glándula tiroidea para que produzca T4.


Glándula tiroidea: Órgano interno del cuerpo que se encuentra en el frente de la parte baja del cuello. Produce hormonas tiroideas, que controlan muchas de las funciones del cuerpo.

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.

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 LA HORMONA ESTIMULANTE DE LA TIROIDES NEONATAL (TSH)	Código: IT-CH-TN-09
		Página 3 de 7
	DIVISIÓN DE SERVICIOS AUXILIARES DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO	Fecha de Revisión: Septiembre 2019
		Versión Vigente: 00

Buffer / tampón: Una 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.

Prueba de Hormona Estimulante de la Tiroides Neonatal(TSH): Inmunoensayo enzimático para cuantificar las hormona tiroidea humana (TSH). La microplaca está recubierta con un anticuerpo anti-TSH que fija la TSH presente en la muestra. Después de la incubación y el lavado para eliminar el material que no se ha fijado, se agrega un anticuerpo monoclonal anti TSH conjugado con peroxidasa de rabano picante (HRP) permitiendo que se fije la TSH

Se forma el siguiente complejo:

Anti-TSH de ratón * TSH * conjugado de ratón anti-TSH-HRP

Después de una segunda incubación y lavado, el complejo inmune es detectado por la reducción de la 3.3'-5.5'-tetrametilbencidina (TMB) por la HRP. El desarrollo del color azul es directamente proporcional a la cantidad de antígeno en la muestra o estándar. La reacción enzimática es detenida agregando ácido sulfúrico y se lee a una absorbancia de 450nm.

4. Material y equipo:

- ° Reactivos y controles para la determinación de hTSH Neonatal
- ° Perforador de tarjetas automático
- ° Lavador de placas
- ° Agitador de placas /incubador
- ° Lector de placas
- ° 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 LA HORMONA ESTIMULANTE DE LA TIROIDES NEONATAL (TSH)	Código: IT-CH-TN-09
		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
5.1.2	Químico/Laboratorista	Revisa la 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 Bitácora de Recepción de Muestras de Tamiz Neonatal.
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.
5.4 Realización del ensayo		
5.4.1	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 TSH Neonatal).



**INSTRUCCIÓN DE TRABAJO PARA LA DETERMINACIÓN
DE LA HORMONA ESTIMULANTE DE LA TIROIDES
NEONATAL (TSH)**

Código: IT-CH-TN-09

Página 5 de 7

Fecha de Revisión:
Septiembre 2019

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

Versión Vigente: 00

5.7 Lectura de la placa / obtención de resultados

5.4.1	Químico/Laboratorista	Mide la fluorescencia utilizando la longitud de onda de 450 nm, máximo 15 minutos después de terminado el ensayo.				
		<table border="1"><thead><tr><th>¿Resultados de controles entro de rango ?</th><th>Entonces</th></tr></thead><tbody><tr><td>Si</td><td>Continua en 5.4.2</td></tr><tr><td>No</td><td>Se reprocesan las muestras</td></tr></tbody></table>	¿Resultados de controles entro de rango ?	Entonces	Si	Continua en 5.4.2
¿Resultados de controles entro de rango ?	Entonces					
Si	Continua en 5.4.2					
No	Se reprocesan las muestras					
5.4.2	Químico/Laboratorista	Valida resultados. (Ver anexo 2. Valores de referencia)				
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 HORMONA ESTIMULANTE DE LA TIROIDES NEONATAL (TSH)

Código: IT-CH-TN-09

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 TSH Neonatal:

TSH

1) Taladrar calibradores, controles y muestras en placa recubierta.

	1	2	3	4	5	6	7...
A	C0	C4	TOMB				
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 Extracción a cada pocillo y tapar con cubierta adhesiva.
 3) Incubar la placa durante 1 h a temperatura ambiente con agitación a 900 rpm.
 4) Tras la incubación invertir la placa para eliminar la solución y sacudir la placa para quitar los discos de muestra.
 5) Lavar 3 veces la placa con 350 µL de Solución de Lavado (1:10):


270 ml Agua destilada
 + 30 ml Sol'n Wash
 300 ml Sol'n Lavado
 para todos los ciclos

6) Agregar 100 µL del Anticuerpo Conjugado con Peroxidasa a cada pocillo y tapar con cubierta adhesiva. Incubar durante 1 hora a temperatura ambiente y con agitación a 900 rpm.

Preparación del Conjugado para una placa (1:100):

9,900 µL Sol'n Extracción
 + 100 µL Ac. Conjugado (Epp)
 10,000 µL = 10 ml Conjugado

7) Lavar 3 veces con 350 µL de Solución de Lavado.
 8) Agregar 100 µL de TMB (sacar el frasco solo cuando se vaya utilizar) a cada pocillo e incubar durante 15 minutos a temperatura ambiente, protegido de la luz y sin agitar.
 9) Agregar 100 µL de Solución de Paro a cada pocillo.
 10) Leer a 450 nm. Máximo 15 minutos después.

	INSTRUCCIÓN DE TRABAJO PARA LA DETERMINACIÓN DE LA HORMONA ESTIMULANTE DE LA TIROIDES NEONATAL (TSH)	Código: IT-CH-TN-09
		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 TSH	Valores de referencia
Presunto sospechoso	Mayor a 10.0 μ U/ml
Presunto negativo	Menor a 10.0 μ U/ml

7. Control de Cambios:

Versión Vigente	Fecha	Motivo
00	Septiembre 2019	Alta de documento