	INSTRUCCIÓN DE TRABAJO PARA LA DETERMINACIÓN DE TRIPSINOGENO INMUNOREACTIVO NEONATAL (IRT)	Código: IT-CH-TN-11
		Página 1 de 7
	DIVISIÓN DE SERVICIOS AUXILIARES DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO	Fecha de Revisión: Setiembre 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-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> Laboratorista 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 TRIPSINOGENO INMUNOREACTIVO NEONATAL (IRT)	Código: IT-CH-TN-11
		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.

Fibrosis quística: Enfermedad genética más letal, de carácter recesivo, multisistémico y progresivo, afecta de preferencia a poblaciones caucásicas. La enfermedad se caracteriza por el espesamiento del mucus producido por las glándulas exocrinas induciendo compromiso sino-pulmonar con daño pulmonar progresivo, insuficiencia pancreática y por lo tanto síndrome de mala-absorción, con consecuente desnutrición, esterilidad masculina por atrofia de los conductos deferentes y elevación de electrolitos en el sudor. Siendo la afectación pulmonar causante de un 95% de los fallecimientos.

Glándula exocrina: Órgano que sintetiza y libera diversas sustancias (hormonas, líquidos diversos) por fuera de la circulación sanguínea. En efecto, las glándulas exocrinas liberan sus sustancias directamente al exterior del cuerpo humano o en una cavidad natural del cuerpo: interior de las narinas, de la vagina, del estómago, etc.


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

	INSTRUCCIÓN DE TRABAJO PARA LA DETERMINACIÓN DE TRIPSINOGENO INMUNOREACTIVO NEONATAL (IRT)	Código: IT-CH-TN-11
		Página 3 de 7
	DIVISIÓN DE SERVICIOS AUXILIARES DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO	Fecha de Revisión: Septiembre 2019
		Versión Vigente: 00


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.

Prueba de Tripsinogeno Neonatal (IRT) : Inmunoensayo enzimático para la determinación cuantitativa de Tripsinógeno inmunoreactivo (IRT). La placa está revestida con anticuerpo IRT que captura el IRT presente en la muestra. Tras la incubación y un paso de lavado para eliminar el material no ligado, se añade un anticuerpo biotinilado anti -IRT a los calibradores y muestras. Tras un segundo lavado se añade la estreptavidina-peroxidasa a los pocillos que se unen con la gran afinidad a la biotina.

Tras una tercera incubación y un paso de lavado, se detecta el inmunocomplejo mediante la reducción de 3,3'-5,5'-tetrametilbenzidina (TMB) por peroxidasa de rabano (HRP). El desarrollo de un color azul es directamente proporcional a la cantidad de antígeno en la muestra estándar. La reacción enzimática se detiene mediante la adición de ácido sulfúrico y se lee la absorbancia a 450nm y 405nm.


4. Material y equipo:

- ° Reactivos y controles para la determinación de IRT Neonatal
- ° Perforador de tarjetas automático
- ° Lavador
- ° Agitador de placas /incubador
- ° Lector de placas
- ° Pipetas automáticas multicanal (20.0-200.0 µl)
- ° Pipetas automática (0.5-5.0 ml)
- ° Pipetas 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 TRIPSINOGENO INMUNOREACTIVO NEONATAL (IRT)	Código: IT-GH-TN-11
		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 y preparación de la placas								
5.2.1	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.						
5.3 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 IRT Neonatal).						
5.4 Lectura de la placa / obtención de resultados								
5.4.1	Químico/Laboratorista	Mide la fluorescencia utilizando la longitud de onda de 450 nm, máximo 20 minutos después de terminado el ensayo.						
		<table border="1"> <thead> <tr> <th>¿Resultados 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>	¿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							
(Ver anexo 2. Valores de referencia)								

	INSTRUCCIÓN DE TRABAJO PARA LA DETERMINACIÓN DE TRIPSINOGENO INMUNOREACTIVO NEONATAL (IRT)	Código: IT-CH-TN-11
		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 TRIPSINOGENO INMUNOREACTIVO NEONATAL
(IRT)**

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

Código: IT-CH-TN-11

Página 6 de 7

Fecha de Revisión:
Septiembre 2019

Versión Vigente: 00

6. Anexos:

1.- Técnica resumida para IRT Neonatal

IRT (Zentech)		
1) Taladrar calibradores, controles y muestras en placa recubierta.		
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) Incubar toda la noche en refrigeración (18-20h).		
5) Tras la incubación invertir la placa para eliminar la solución y sacudir la placa para quitar los discos de muestra.		
6) Lavar 3 veces la placa con 350 µL de Solución de Lavado (1:10):		
	<table border="1"><tr><td>270 ml Agua destilada + 30 ml Sol'n Wash 300 ml Sol'n Lavado para todos los ciclos</td></tr></table>	270 ml Agua destilada + 30 ml Sol'n Wash 300 ml Sol'n Lavado para todos los ciclos
270 ml Agua destilada + 30 ml Sol'n Wash 300 ml Sol'n Lavado para todos los ciclos		
7) Agregar 100 µL del Anticuerpo Conjugado a cada pocillo y tapar con cubierta adhesiva. Incubar durante 2 horas a temperatura ambiente.		
Preparación del Conjugado para una placa (1:1000):		
	<table border="1"><tr><td>9,900 µL Sol'n Extracción + 100 µL Ac. Conjugado Biot(100x) 10,000 µL = 10 ml Conjugado</td></tr></table>	9,900 µL Sol'n Extracción + 100 µL Ac. Conjugado Biot(100x) 10,000 µL = 10 ml Conjugado
9,900 µL Sol'n Extracción + 100 µL Ac. Conjugado Biot(100x) 10,000 µL = 10 ml Conjugado		
8) Lavar 3 veces con 350 µL de Solución de Lavado.		
9) Agregar 100 µL de Conjugado Estreptavidina HRP a cada pocillo e incubar durante 30 minutos a temperatura ambiente. Tapar con cubierta adhesiva.		
10) Lavar 3 veces con 350 µL de Solución de Lavado.		
11) Agregar 100 µL de TMB a cada pocillo (sacar el frasco sólo cuando se vaya utilizar). Tapar con cubierta adhesiva.		
12) Incubar la placa durante 15 minutos a temperatura ambiente, protegida de la luz y sin agitar.		
13) Agregar 100 µL de Solución de Paro a cada pocillo.		
14) Leer a 450 nm. Máximo 20 minutos después.		



**INSTRUCCIÓN DE TRABAJO PARA LA DETERMINACIÓN
DE TRIPSINOGENO INMUNOREACTIVO NEONATAL
(IRT)**

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

Código: IT-CH-TN-11

Página 7 de 7

Fecha de Revisión:
Septiembre 2019

Versión Vigente: 00

2.- valores de referencia

Prueba de IRT	Valores de referencia
Presunto sospechoso	Mayor a 90.8 ng/ml
Presunto negativo	Menor a 90.8 ng/ml

7. Control de Cambios:

Versión Vigente	Fecha	Motivo
00	Septiembre 2019	Alta de documento