Ministerio de Salud
Hospital Nacional
"Hipólito Unanue"

Nº 75 -2023-HNHU-DG

Resolución Directoral

Lima 28 *de* Febrero *de 2023*

Visto el Expediente Nº 23-007657-001, que contiene el Memorando Nº 329-2023-DPCYAP/HNHU, a través del cual el Jefe del Departamento de Patología Clínica y Anatomía Patológica, solicita la aprobación mediante acto resolutivo de los siguientes proyectos de Guías de Procedimientos Asistenciales: "Examen de Herpes Tipo 2 IgM" y "Examen de Herpes Simple Tipo 2 IgG".

CONSIDERANDO:

Que, los numerales I y II del Título Preliminar de la Ley N° 26842, Ley General de Salud disponen que la salud es condición indispensable del desarrollo humano y medio fundamental para alcanzar el bienestar individual y colectivo, y que la protección de la salud es de interés público. Por tanto, es responsabilidad del Estado regularla, vigilarla y promoverla;

Que, el artículo 37° de la Ley precitada, establece que los establecimientos de salud y los servicios médicos de apoyo, cualquiera sea su naturaleza o modalidad de gestión, deben cumplir los requisitos que disponen los reglamentos y normas técnicas que dicta la Autoridad de Salud de nivel nacional (...);

Que, mediante Decreto Supremo N°013-2006-SA, se aprueba el Reglamento de Establecimiento de Salud y Servicios Médicos de Apoyo, el cual tiene por objetivo establecer los requisitos y condiciones para la operación y funcionamiento de los establecimientos de salud y servicios médicos de apoyo, orientados a garantizar la calidad de sus prestaciones, así como los mecanismos para la verificación, control y evaluación de su cumplimiento;

Que, el segundo párrafo del artículo 5° del acotado Reglamento, establece que los establecimientos de salud y servicios médicos de apoyo deben contar en cada área, unidad o servicio, con manuales de procedimientos, guías de práctica clínica referidos a la atención de los pacientes, personal, suministros, mantenimiento, seguridad y otros que sean necesarios, según sea el caso;

Que, el artículo 3° del Reglamento de Organización y Funciones del Hospital Nacional Hipólito Unanue, aprobado con Resolución Ministerial Nº 099-2012/MINSA, señala entre otros, que son funciones generales del Hospital administrar los recursos humanos, materiales económicos y financieros para el logro de la misión y sus objetivos en cumplimiento a las normas vigentes; así como mejorar continuamente la calidad, productividad, eficiencia y eficacia de la atención de la salud, estableciendo las normas y los parámetros necesarios, así como generando una cultura organizacional con valores y actitudes hacia la satisfacción de las necesidades y expectativas del paciente y su entorno familiar;

Que, con Resolución Directoral 158-2021-HNHU-DG del 17 de junio de 2021, se aprobó la Directiva Sanitaria N° 042-HNHU/2021/DG "*Directiva Sanitaria para la Elaboración de Guías de Procedimientos Asistenciales en el Hospital Nacional Hipólito Unanue V.2*", el cual tiene como finalidad contribuir a garantizar que los usuarios reciban atención de calidad respaldadas por Guías Técnicas de Procedimientos Asistenciales basadas en evidencias científicas, buscando el máximo beneficio y mínimo riesgo a los usuarios y el uso racional de recursos en el Hospital Nacional Hipólito Unanue;

Que, el Departamento de Patología Clínica y Anatomía Patológica, según el Reglamento de Organización y Funciones del Hospital Nacional Hipólito Unanue, en el literal j) del artículo 75° señala que dentro de sus funciones generales se encuentra: Proponer y aplicar los procedimientos y guías de atención para la atención de los pacientes en la Institución, motivo por el cual la propuesta presentada mediante Memorando Nº 329-2023-DPCYAP/HNHU, que contiene el Informe Nº 083-SMIyBM-HNHU-2023, del Servicio de Microbiología, Inmunología y Biología Molecular;

Que, asimismo, el artículo 11° del Reglamento de Organización y Funciones del Hospital Nacional Hipólito Unanue, señala que la Oficina de Gestión de la Calidad, se encarga de implementar el Sistema de Gestión de la Calidad en el Hospital para promover la mejora continua de la atención asistencial y administrativa al paciente con la participación activa del personal y en el literal f) del mencionado artículo señala que dentro de sus funciones generales se encuentra: Asesorar en la formulación de normas, guías de atención y procedimientos de atención al paciente;

Que, ante ello con Nota Informativa Nº 108-2023-OGC/HNHU, la Oficina de Gestión de la Calidad remite los Informes Nº 068-2023-KMGM/HNHU y Nº 069-2023-KMGM/HNHU, a través del cual se informa que los proyectos de Guías de Procedimientos Asistenciales: "Examen de Herpes Tipo 2 IgM" y "Examen de Herpes Simple Tipo 2 IgG", elaborados por el Servicio de Microbiología, Inmunología y Biología Molecular, han sido evaluados y se encuentran acordes de manera estructural a los lineamientos planteados en la Directiva Sanitaria N° 042-HNHU/2021/DG "Directiva Sanitaria para la Elaboración de Guías de Procedimientos Asistenciales en el Hospital Nacional Hipólito Unanue V.2", aprobada con Resolución Directoral N° 158-2021-HNHU-DG, y que por tanto se encuentran aptas para su aprobación;

Estando a lo informado por la Oficina de Asesoría Jurídica en su Informe Nº 95-2023-OAJ/HNHU;

Con el visto bueno del Departamento de Patología Clínica y Anatomía Patológica, de la Oficina de Gestión de la Calidad y de la Oficina de Asesoría Jurídica; y,

De conformidad con lo dispuesto en la Directiva Sanitaria N° 042-HNHU/2021/DG "Directiva Sanitaria para la Elaboración de Guías de Procedimientos Asistenciales en el Hospital Nacional Hipólito Unanue V.2", aprobada con Resolución Directoral N° 158-2021-HNHU-DG y de acuerdo a las facultades establecidas en el Reglamento de Organización y Funciones del Hospital Nacional Hipólito Unanue, aprobado por Resolución Ministerial Nº 099-2012/MINSA;

Ministerio de Salud
Hospital Nacional
"Hipólito Unanue"

Nº 75 -2023-HNHU-DG

REPÚBLICA DEL PERÚ

Resolución Directoral

Lima 28 de Febrero de 2023

SE RESUELVE:

Artículo 1.- APROBAR la Guía de Procedimiento Asistencial: "Examen de Herpes Tipo 2 IgM", la misma que forma parte de la presente Resolución y por los fundamentos expuestos en la parte considerativa.

Artículo 2.- APROBAR la Guía de Procedimiento Asistencial: "Examen de Herpes Simple Tipo 2 IgG", la misma que forma parte de la presente Resolución y por los fundamentos expuestos en la parte considerativa.

Artículo 3.- ENCARGAR al Departamento de Patología Clínica y Anatomía Patológica, la ejecución y seguimiento de las Guías de Procedimientos Asistenciales aprobadas en los artículos 1° y 2° de la presente Resolución.

Artículo 4.- DISPONER que la Oficina de Comunicaciones proceda a la publicación de la presente Resolución en la Página Web del Hospital https://www.gob.pe/hnhu.

Regístrese y comuníquese.

MINISTERIO DE SALUD
Hospital Nacional Hipólito Unanue
Dr. Andrés Martín ALCÁNTARA DÍAZ
Director General (e)
CMP N° 028813

V°B° Oficina de Asesoría Jurídica
V°B° Dra. Gladys Patiño Soto – Departamento de Patología Clínica y Anatomía Patológica
V°B° Dra. Silvia Paola Vargas Chugo – Oficina de Gestión de la Calidad

AMAD/EVVJ/snn
DISTRIBUCIÓN.
( ) D. Adjunta
( ) Dpto. de Patología Clínica y Anatomía Patológica
( ) OAJ
( ) Of. Gestión de la Calidad
( ) Comunicaciones
( ) OCI
( ) Archivo

HOSPITAL NACIONAL HIPOLITO UNANUE

GUÍA DE PROCEDIMIENTO ASISTENCIAL: EXAMEN DE HERPES TIPO 2 IgM

MINISTERIO DE SALUD SMIyBM V°B° MINISTERIO DE SALUD

Equipo de Gestión del Hospital Nacional Hipólito Unánue

M.C. Andrés Martín Alcántara Díaz
Director General

M.C. Andrés Martín Alcántara Díaz
Director Adjunto

ECON. Jorge Luis Peinado Silva
Director Administrativo

M.C. Silvia Paola Vargas Chugo
Jefa de la Oficina de Gestión de La Calidad

MINISTERIO DE SALUD
SMIyBM
V°B°
MINISTERIO DE SALUD

Grupo Elaborador de Guía de Procedimiento Asistencial: EXAMEN DE HERPES TIPO 2 IgM

M.C. PATIÑO SOTO GLADYS LEANDRA	JEFE DEL DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA CLINICA Y ANATOMIA PATOLOGICA
M.C. SIERRA CHAVEZ ELIZETT	JEFE DEL SERVICIO DE MICROBIOLOGIA, INMUNOLOGIA Y BIOLOGIA MOLECULAR
M.C. RODRIGUEZ AGREDA ASTRID	MÉDICO ASISTENCIAL DE INMUNOLOGIA

MINISTERIO DE SALUD SMIyBM V°B° MINISTERIO DE SALUD

INDICE

	INTRODUCCION	5
	DECLARACION DE CONFLICTOS DE INTERES	6
I.	FINALIDAD Y JUSTIFICACION	7
II.	OBJETIVOS	7
	2.1 OBJETIVO GENERAL	7
	2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	7
III.	ÁMBITO DE APLICACIÓN	8
IV.	PROCEDIMIENTO A ESTANDARIZAR	8
V.	CONSIDERACIONES GENERALES	8
	5.1 DEFINICIONES OPERATIVAS	8
	5.2 CONCEPTOS BASICOS	9
	5.3 REQUERIMIENTOS BASICOS	10
	5.3.1 RECURSOS HUMANOS	11
	5.3.2 RECURSOS MATERIALES	11
	• EQUIPOS BIOMÉDICOS	11
	• MATERIAL MÉDICO NO FUNGIBLE	11
	• MATERIAL MÉDICO FUNGIBLE	11
	5.4 POBLACION DIANA	11
VI.	CONSIDERACIONES ESPECÍFICAS	11
	6.1 METODOLOGIA	11
	6.2 DESCRIPCIÓN DETALLADA DE ACTIVIDADES Y PROCEDIMIENTOS	12
	6.3 INDICACIONES	15
	6.4 CONTRAINDICACIONES	16
	6.5 COMPLICACIONES	16
	6.6 RECOMENDACIONES	17
	6.7 INDICADORES DE EVALUACION	17
VII.	REFERENCIAS BLIBLIOGRAFICAS	17
VIII.	ANEXOS	18

MINISTERIO DE SALUD SMIyBM MINISTERIO DE SALUD

INTRODUCCION

La infección por el virus del herpes simple tipo 2 (VHS-2) es una de las enfermedades virales de transmisión sexual más comunes en todo el mundo y se estima que 491 millones de personas de 15 a 49 años (13%) en todo el mundo tienen infección por HSV-2.

Se considera que las infecciones por el VHS-2 se transmiten casi exclusivamente por vía sexual y pueden ser sintomáticas o asintomáticas. La mayor parte de la transmisión sexual del VHS se produce durante los períodos asintomáticos porque los pacientes no son conscientes de la diseminación asintomática del virus.

El papel potencial de la infección por HSV-2 para facilitar la transmisión del VIH destaca la necesidad de incluir pruebas y terapias anti-HSV-2 en el tratamiento de pacientes con VIH, especialmente para reducir el riesgo de transmisión del VIH a través de lesiones herpéticas.

La infección por HSV puede identificarse directamente mediante la detección del virus o uno de sus componentes o indirectamente mediante el ensayo de anticuerpos séricos específicos de los virus. Después de la infección con HSV, se forman anticuerpos específicos contra el patógeno, que pueden detectarse mediante varios métodos inmunológicos. La aplicación potencial más significativa de la serología es detectar a los portadores silenciosos de HSV-2, especialmente en entornos de alto riesgo como las clínicas de ETS.

Por ello, la importancia del dosaje de anticuerpos contra el virus herpes simple tipo 2 IgM a los pacientes con sospecha de infección por Virus de Herpes simple tipo 2 que acuden a nuestra institución.

La presente Guía del Examen de Herpes tipo 2 IgM, tiene como objetico estandarizar su procesamiento operativo para así realizarlo con la mayor seguridad posible.

MINISTERIO DE SALUD SMIyBM V°B° MINISTERIO DE SALUD

DECLARACIÓN DE CONFLICTO DE INTERESES

Los siguientes profesionales firmantes, declaramos no tener conflicto de interés con respecto a las recomendaciones de la Guía de Procedimiento Asistencial, no tener ningún tipo de relación financiera o haber recibido financiación alguna por cualquier actividad en el ámbito profesional académico o científico.

GRUPO ELABORADOR DE LA GUIA DE PROCEDIMIENTO ASISTENCIAL	DEPARTAMENTO/ SERVICIO	FIRMA Y SELLO
M.C. PATIÑO SOTO GLADYS LEANDRA	JEFE DEL DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA CLINICA Y ANATOMIA PATOLOGICA	MINISTERIO DE SALUD HOSPITAL NACIONAL HIPOLITO UNANUE ..... Dra. GLADYS LEANDRA PATIÑO SOTO PATOLOGA CLÍNICA C.M.P. 30761 R.N.E. 27992 Jefe el Dpto. Patología Clínica y Anatomía Patológica MINISTERIO DE SALUD HOSPITAL NACIONAL HIPOLITO UNANUE
M.C. SIERRA CHAVEZ ELIZETT	JEFE DEL SERVICIO DE MICROBIOLOGIA, INMUNOLOGIA Y BIOLOGIA MOLECULAR	..... Dra. Elizett Sierra Chávez JEFE DEL SERVICIO DE MICROBIOLOGIA INMUNOLOGIA Y BIOLOGIA MOLECULAR RNE 27561
M.C. RODRIGUEZ AGREDA ASTRID	MÉDICO ASISTENCIAL DE INMUNOLOGIA	..... Dra. Astrid Rodríguez Agreda PATOLOGO CLÍNICO CMP: 58289 RNE: 39224 HOSPITAL NACIONAL HIPOLITO UNANUE

LIMA 20 FEBRERO DEL 2023

MINISTERIO DE SALUD SMIyBM V°B° MINISTERIO DE SALUD

GUÍA DE PROCEDIMIENTOASISTENCIAL: EXAMEN DE HERPES TIPO 2 IgM

I. FINALIDAD Y JUSTIFICACION:

Finalidad:

La finalidad de la presente Guía de Procedimiento Asistencial: Examen de Herpes Tipo 2 IgM es dar a conocer la importancia del análisis de este analito, así como la importancia en estandarizar el procesamiento del mismo. De la misma forma, lograr un uso adecuado y racional en el empleo de esta prueba con las indicaciones dadas en esta guía.

Justificación:

El dosaje de Herpes Tipo 2 IgM es importante para los pacientes que presentan lesiones genitales ya que se conoce que el Virus Herpes Simple -2 es el más comúnmente considerado como el causante de esas lesiones. A pesar de esto, la mayoría de los brotes de la infección se presentarán con síntomas inespecíficos, como picazón genital, irritación y excoriaciones, lo que puede retrasar el diagnóstico y el tratamiento. Como resultado, puede ocurrir una mayor exposición de personas no infectadas.

II. OBJETIVOS

1.1 Objetivo General

Contar con una Guía de Procedimiento Asistencial: Examen de Herpes Tipo 2 IgM para que el personal asistencial del Laboratorio de Inmunología de nuestro hospital realice dicho procedimiento en forma estandarizada y con la mayor seguridad.

2.2 Objetivos Específicos

- Estandarizar la realización del Examen de Herpes Tipo 2 IgM.
- Difundir el uso de la presente Guía de Procedimiento Asistencial a todo el personal asistencial del Hospital Nacional Hipólito Unanue.

MINISTERIO DE SALUD SMIyBM V°B° MINISTERIO DE SALUD

III. ÁMBITO DE APLICACIÓN

La presente Guía de Procedimientos Asistenciales es de aplicación y cumplimiento obligatorio en todas las unidades orgánicas asistenciales del Hospital Nacional Hipólito Unanue.

IV. PROCEDIMIENTO A ESTANDARIZAR

Examen de Herpes Tipo 2 IgM
CPMS: 86696.01

V. CONSIDERACIONES GENERALES

5.1 DEFINICIONES OPERATIVAS

ELISA: *Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay,* ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas. Es una técnica de inmunoensayo en la cual un antígeno inmovilizado se detecta mediante un anticuerpo enlazado a una enzima capaz de generar un producto detectable, como cambio de color o algún otro tipo. En nuestro caso el envase de ensayo contiene tiras de microplaca, cada una con 8 pocillos de reactivo separables, recubiertas con glicoproteína G2 purificada. En el primer paso del análisis, se incuban los pocillos de reactivo con muestras de pacientes diluidas. En el caso de muestras positivas, los anticuerpos específicos de la clase IgM (también IgA e IgG) se ligan a los antígenos correspondientes. Para detectar estos anticuerpos ligados, se lleva a cabo una segunda incubación usando un anticuerpo anti-IgM humana marcado con una enzima (conjugado enzimático) que cataliza una reacción coloreada.

Antígeno: compuesto con glicoproteína G2 purificada mediante cromatografía de afinidad, una proteína de membrana que está presente exclusivamente en el Virus Herpes Simple -2, pero no en el Virus Herpes Simple -1 y que se encuentran recubiertos en los pocillos de reactivo.

Sensibilidad de detección: El límite de detección inferior se define como el promedio de una muestra libre de analitos más el triple de la desviación estándar, e indica el título más bajo de anticuerpos detectable

MINISTERIO DE SALUD SMIyBM V°B° MINISTERIO DE SALUD

inequívocamente. El límite de detección inferior del ELISA anti VHS-2 (gG2) (IgM) se sitúa en la ratio 0,05.

Material de Control: Material de composición conocida usado con el propósito de dar seguimiento al proceso analítico, que debe ser similar a las muestras que están siendo analizadas como muestras problema, en cuanto a la matriz, y al estado físico de preparación y el intervalo de concentración del analito.

Labcore: es un software de gestión de datos de laboratorio (LDMS) basado en web altamente configurable, completo e interoperable que se centra en mejorar la productividad y reducir el papel para los laboratorios analíticos.

Validación: Proceso en el cual se analizan los resultados desde diversos puntos de vista para dar una interpretación congruente, acorde al estado clínico del paciente.

5.2 CONCEPTOS BASICOS:

Virus Herpes Simple - 2: se transmite a través del contacto directo de secciones en un individuo seropositivo que está eliminando activamente el virus. El virus afecta preferentemente la piel y las membranas mucosas, invadiendo las células epiteliales en la exposición inicial y finalmente replicándose intracelularmente en ese sitio. Después de la exposición inicial y la resolución de los síntomas, en un promedio de 10 a 14 días, el virus permanece inactivo en la vaina periaxonal de los nervios sensoriales de los ganglios trigémino, cervical, lumbosacro o autonómico. En estos lugares, la replicación viral a menudo está controlada por el sistema inmunitario del paciente y permanece en un estado latente solo para reaccionar más tarde en la vida. Cuando ocurre la reactivación, el virus viaja a través de los nervios sensoriales hasta que llega a los sitios mucocutáneos donde luego tiene lugar la replicación y conduce a grupos vesiculares en el sitio dermatológico de esa neurona sensorial. (1)

MINISTERIO DE SALUD SMIyBM V°B° MINISTERIO DE SALUD

La infección neurológica por el virus del herpes simple tipo 2 (VHS-2): es responsable de una morbimortalidad significativa y es una de las pocas infecciones virales con terapia específica y efectiva. Se caracteriza clínicamente por un inicio agudo y por la tríada de fiebre, cefalea asociados o no a síntomas neurológicos y cambios de comportamiento, principalmente secundarios a la afectación del lóbulo temporal. Aunque el diagnóstico temprano es crítico para la terapia, las secuelas neurológicas son comunes. Ante la sospecha diagnóstica se debe iniciar tratamiento empírico con aciclovir hasta que se realice la confirmación del diagnóstico, dada su baja toxicidad y alta eficacia cuando es administrado tempranamente. El diagnóstico de certeza viene dado por la asociación de la reacción en cadena de la polimerasa para virus herpes, la tomografía computarizada, la resonancia magnética, el electroencefalograma y el análisis del líquido cefalorraquídeo. (2)

5.3 REQUERIMIENTOS BÁSICOS

5.3.1 Recursos Humanos:

- Médico especialista en Patología Clínica.
- Licenciado en Tecnología Médica.

5.3.2 Recursos Materiales:

- **Equipos Biomédicos**
  - Centrifuga de tubos
  - Lector de placas Elisa

- **Material Médico no Fungible:**
  - Micropipeta calibrada.
  - Micropipeta multicanal
  - Temporizador

- **Material Médico Fungible:**
  - Papel toalla
  - Tubo al vacío sin aditivo
  - Pocillos de reactivo recubiertos de antígeno
  - Control Positivo

MINISTERIO DE SALUD SMIyBM V°B° MINISTERIO DE SALUD

- Control Negativo
- Calibrador 1
- Calibrador 2
- Calibrador 3
- Conjugado enzimático
- Tampón de muestra
- Tampón de lavado
- Solución de cromógeno/sustrato
- Solución de parada
- Tips de 10 a 200 µl
- Agua destilada

5.4 POBLACION DIANA:

Población de todos los grupos etarios.

VI. CONSIDERACIONES ESPECÍFICAS

6.1 METODOLOGÍA:

Se realizó la búsqueda bibliográfica del término "La serología de IgM de herpes simple falsamente positiva en pacientes con COVID-19 se correlaciona con la seropositividad de IgM/IgG para SARS-CoV-2" en los siguientes motores de búsqueda:

PUBMED

Encontrándose lo siguiente:
La diferenciación de la COVID-19 de otras causas de neumonía viral, como el herpes simple (VHS), puede complicarse por las características clínicas y de laboratorio compartidas. La neumonía viral se diagnostica principalmente en base a técnicas moleculares o serológicas. Las interferencias de los inmunoensayos serológicos, a menudo atribuidas a la aparición simultánea de inmunoglobulinas heterólogas (virales), son bien conocidas, pero no se han estudiado en pacientes con COVID-19. Después de resultados falsos positivos de inmunoglobulina M (IgM) contra el VHS en nuestro paciente índice, se analizó a otros 25 pacientes con COVID-19 para detectar IgM contra el VHS-1/2 con el

MINISTERIO DE SALUD SMIyBM V°B° MINISTERIO DE SALUD

ensayo de enlace quimioluminiscente y el ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA) de Euroimmun. Cuarenta y cinco por ciento de los pacientes con COVID-19 dieron positivo para HSV IgM con inmunoensayos quimioluminiscentes (CLIA) de la plataforma de diagnóstico Liaison® XL. Ningún índice de HSV fue positivo con el ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA) de Euroimmun, lo que sugiere una interferencia del inmunoensayo. Se encontró una correlación significativa entre la positividad de HSV IgM y SARS-CoV-2 IgM/IgG. La adición de polivinilpirrolidona al 0,5 %, inhibiendo la adsorción en fase sólida no específica, eliminó la interferencia en el 22 % de los casos de falsos positivos, lo que sugiere una interferencia causada por la IgM reactiva en fase sólida. Por lo tanto, los resultados de los inmunoensayos serológicos deben interpretarse con precaución en pacientes con COVID-19. (3)

6.2 DESCRIPCIÓN DETALLADA DE ACTIVIDADES Y PROCEDIMIENTO

El ELISA anti VHS tipo 2 IgM, sirve para la determinación in vitro semicuantitativa de anticuerpos humanos de la clase de inmunoglobulina IgM contra la glicoproteína G2 en suero o plasma para el diagnóstico de infecciones por VHS-2, el procesamiento del mismo se realiza de la siguiente manera:

A CARGO DEL PERSONAL TECNÓLOGO MÉDICO:

1. PROCESAMIENTO:

A. Previamente al procesamiento, verificar las condiciones de temperatura y humedad del ambiente (registro de temperatura y humedad).
B. Retire el kit de materiales del Refrigerador (pocillos de reactivo recubiertos, calibrador, controles, conjugado enzimático, tampón de muestra, tampón de lavado, solución de cromógeno/sustrato y solución de parada), para ser llevados a temperatura ambiente (de +18 °C a +25 °C) por aproximadamente 30 minutos antes de ser usado.
C. Se inicia el procedimiento con la apertura del envoltorio protector resellable de los Pocillos microplaca. Se recomienda no abrir el

MINISTERIO DE SALUD SMHyBM V°B° MINISTERIO DE SALUD

envoltorio protector hasta que el contenido haya alcanzado la temperatura ambiente, para evitar que los preparados se humedezcan y guardarlos inmediatamente en el envoltorio protector los pocillos de reactivo no utilizados de una microplaca empezada y cerrarlo herméticamente. Tener en cuenta que los pocillos de reactivo recubiertos de antígeno pueden conservarse hasta 4 meses si se almacenan en seco a entre +2 °C y +8 °C.

D. Utilizar suero humano, plasma con EDTA, heparina o citrato como muestra a analizar. Las muestras de los pacientes pueden conservarse hasta por 14 días a una temperatura de entre +2 °C y +8 °C. Tener en cuenta que las muestras diluidas se deben incubar el mismo día que se preparan.

E. Diluir las muestras con tampón de muestra coloreado en verde en la proporción 1:101 de la siguiente manera: añadir 10 µl de muestra a 1,0 ml de tampón de muestra y mezcle bien con un vórtex. No es conveniente mezclar con la pipeta de muestreo. Incube la mezcla durante un mínimo de 10 minutos a temperatura ambiente (entre +18 °C y +25 °C).

F. Agregar a cada pocillo de reactivo 100 µl tanto de calibrador como de los controles positivo y negativo o muestras de pacientes diluidas, según el esquema de pipeteo. Incubar durante 30 minutos a temperatura ambiente (+18 °C a +25 °C).

Esquema de pipeteo

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	C	P 6	P 14	P 22								
B	pos	P 7	P 15	P 23								
C	neg	P 8	P 16	P 24								
D	P 1	P 9	P 17									
E	P 2	P 10	P 18									
F	P 3	P 11	P 19									
G	P 4	P 12	P 20									
H	P 5	P 13	P 21									

G. Luego, vaciar los pocillos de reactivo y a continuación lavarlos 3 veces utilizando cada vez 300 µl de tampón de lavado diluido listo para usar.

MINISTERIO DE SALUD SMIyBM V°B° MINISTERIO DE SALUD

H. Para la preparación del tampón de lavado, extraer el volumen requerido del frasco con una pipeta limpia y dilúyalo en agua desionizada o destilada (1 parte de reactivo y 9 partes de agua), siendo para una tira de microplaca, 5 ml de concentrado y 45 ml de agua. El tampón de lavado se suministra en una concentración 10x. En caso de que aparezcan cristales de sal en el tampón concentrado, calentar el tampón a +37 °C y mezclarlo bien antes de diluirlo. Cabe mencionar que el tampón de lavado diluido listo para usar se conserva 4 semanas si se manipula correctamente y se almacena a entre +2 °C y +8 °C.

I. Deberá dejar actuar el tampón de lavado en cada pocillo de reactivo entre 30 y 60 segundos por cada ciclo de lavado y, a continuación, aspirar o vaciar. Tras el proceso de lavado manual, sacudir enérgicamente la microplaca con las aberturas hacia abajo sobre papel absorbente para eliminar por completo los restos de tampón de lavado.

J. Tener en cuenta que los restos de líquido (>10 µl) que permanezcan en los pocillos de reactivo tras el proceso de lavado pueden influir en la conversión del sustrato y dar lugar a valores de extinción falsamente bajos. Un lavado insuficiente (menos de 3 ciclos de lavado, volumen insuficiente de tampón de lavado o tiempos de acción demasiado cortos) puede dar lugar a valores de extinción falsamente elevados. Las posiciones libres dentro de la tira de microplaca deben ocuparse con pocillos de reactivo vacíos con el mismo formato de placa que el del parámetro a analizar.

K. Añadir 100 µl de conjugado enzimático (IgM antihumana marcada con peroxidasa), el cual debe mezclarse bien antes de su uso, en cada pocillo de reactivo. Luego, incubar durante 30 minutos a temperatura ambiente (entre +18 °C y +25 °C).

L. Seguido, vaciar los pocillos. Y proceder a lavar según lo descrito anteriormente en el punto F y H.

M. Añadir con la pipeta 100 µl de la solución de cromógeno/sustrato en cada pocillo de reactivo. Incubar durante 15 minutos a temperatura ambiente (entre +18 °C y +25 °C), tener en cuenta cerrar el frasco de solución cromógeno/sustrato inmediatamente

MINISTERIO DE SALUD SMIyBM V°B° MINISTERIO DE SALUD

después de su uso, ya que la solución es sensible a la luz (proteger de la exposición directa a la luz solar). La solución debe ser transparente; no debe utilizarse si presenta una coloración azulada ya antes de su uso.

N. Añadir 100 µl de la solución de parada, el cual viene listo para su uso, en cada pocillo, en el mismo orden y a la misma velocidad con los que se agregó previamente la solución de cromógeno/sustrato.

O. Tener en cuenta que para la medición fotométrica de la intensidad del color debe realizarse a una longitud de onda de medición de 450 nm y una longitud de onda de referencia de entre 620 nm y 650 nm, dentro de los 30 primeros minutos después de añadir la solución de parada. Antes de realizar la medición, agitar ligeramente la microplaca para asegurar la distribución homogénea de la solución colorante.

P. Finalmente, introducir la microplaca trabajada en la lectora de Elisas programando 01 calibrador, 02 controles y el número de muestras a analizar, para obtener los valores de extensión del calibrador, controles y muestras, los cuales se ingresarán a unas tablas de Excel, el cual está compuesta por una fórmula para obtener el valor de la ratio.

A CARGO DEL PERSONAL PATÓLOGO CLÍNICO:

A. Verificar los resultados emitidos por la lectora de Elisas, de los controles, calibradores y muestras.

B. Verificar resultados transcritos al Labcore.

C. Validar resultados transcritos al sistema Labcore.

D. Correlación clínica-patológica del paciente con resultados obtenidos si se requiere.

6.3 INDICACIONES

- Historia reciente de enfermedad compatible con un herpes genital con lesiones aparentes.

MINISTERIO DE SALUD SMIyBM V°B° MINISTERIO DE SALUD

- Mujeres embarazadas, por ser la seroprevalencia de HSV-2 un signo potencial de infección.
- Pacientes VIH, por la relación sinergia entre las infeccione por VIH y HSV.

6.4 CONTRAINDICACIONES

- No aplica.

6.5 COMPLICACIONES:

Esta descrito, en el inserto de este ensayo ELISA, que el test no se verá afectado a determinadas concentraciones de ciertas sustancias endógenas, por lo tanto, no generaría algún impacto en los resultados con estas concentraciones:

Bilirrubina hasta 0,4 mg/ml
Hemoglobina hasta 10mg/dl
Trigliceridos hasta 20 mg/ml

Pasadas estas concentraciones, si podría alterar los resultados de la prueba.

6.6 RECOMENDACIONES:

EXAMEN DE HERPES TIPO 2 IgM	NIVEL DE EVIDENCIA	GRADO DE RECOMENDACION
Se debe considerar el cribado serológico en personas con antecedentes de síntomas genitales recurrentes de etiología desconocida cuando los métodos directos de detección del virus (cultivo del virus o prueba de PCR de muestras genitales) han sido repetidamente negativos. (4)	III	B
Las tasas de seroprevalencia del VHS en la población local y la presencia o ausencia de factores de riesgo de Herpes Genital influyen en el valor predictivo positivo de los ensayos de anticuerpos específicos del tipo de VHS. Los datos epidemiológicos locales y las características demográficas de los pacientes deben guiar las pruebas y la interpretación de los resultados. (5)	III	B
En pacientes con baja probabilidad de Herpes Genital, un resultado positivo de HSV-2 debe confirmarse en una muestra repetida o mediante el uso de un ensayo diferente. (5)	III	B

Una mujer embarazada que no tiene antecedentes de HSV pero que ha tenido una pareja con HSV genital debe someterse a pruebas serológicas específicas de tipo para determinar su riesgo de adquirir HSV genital en el embarazo antes del embarazo o tan pronto como sea posible en el embarazo. Las pruebas deben repetirse a las 32 a 34 semanas de gestación. (6)	III	B

6.7 INDICADORES DE EVALUACION:

- Medición de la cantidad de Herpes Tipo 2 IgM que se procesa en comparación del resto de pruebas del Servicio de Inmunología. (Ver Anexo 06).

VII. REFERENCIAS BLIBLIOGRÁFICAS

1. Jacob Mathew Jr; Amit Sapra.Herpes Simplex Type 2. StatPearls Publishing; 2022 Jan-.. Disponible en: https://www.statpearls.com/ArticleLibrary/viewarticle/688
2. Encefalitis por el virus de herpes simple tipo 2 en un paciente adulto sano: un caso inusual. Rev. perú. med. exp. salud publica vol.37 no.3 Lima jul-sep 2020. Disponible en: http://dx.doi.org/10.17843/rpmesp.2020.373.4752
3. Laura Vandervore,[a,*] Eugénie Van Mieghem,[b] Vicky Nowé,[c] Sofie Schouwers,[a] Charlotte Steger,[b] Pascale Abrams,[d] Jozef Van Schaeren,[a] Anissa Meskal,[a] and Timon Vandamme[e,f] False positive Herpes Simplex IgM serology in COVID-19 patients correlates with SARS-CoV-2 IgM/IgG seropositivity. Diagn Microbiol Infect Dis. 2022 May; 103(1): 115653. Disponible en: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8802144/
4. Peuli Nath, Md Alamgir Kabir, Somaiyeh Khoubafarin Doust, and Aniruddha Ray* Diagnosis of Herpes Simplex Virus: Laboratory and Point-of-Care Techniques. Infect Dis Rep. 2021 Jun; 13(2): 518–539. Disponible en: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8293188/
5. A M Geretti Genital herpes. Sex Transm Infect. 2006 Dec; 82(Suppl 4): iv31–iv34. Disponible en: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2563896/

MINISTERIO DE SALUD SMIyBM V°B° MINISTERIO DE SALUD

6. David A. Baker, [1,*] Andrea Pressley, [1] Lillian Meek, [1] Reinaldo Figueroa, [1] Barbara Yates, [2] and Lynn Dix [2]. HSV Serologic Testing for Pregnant Women: Willingness to Be Tested and Factors Affecting Testing. Infect Dis Obstet Gynecol. 2011; 2011: 874820. Disponible en: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3094703/

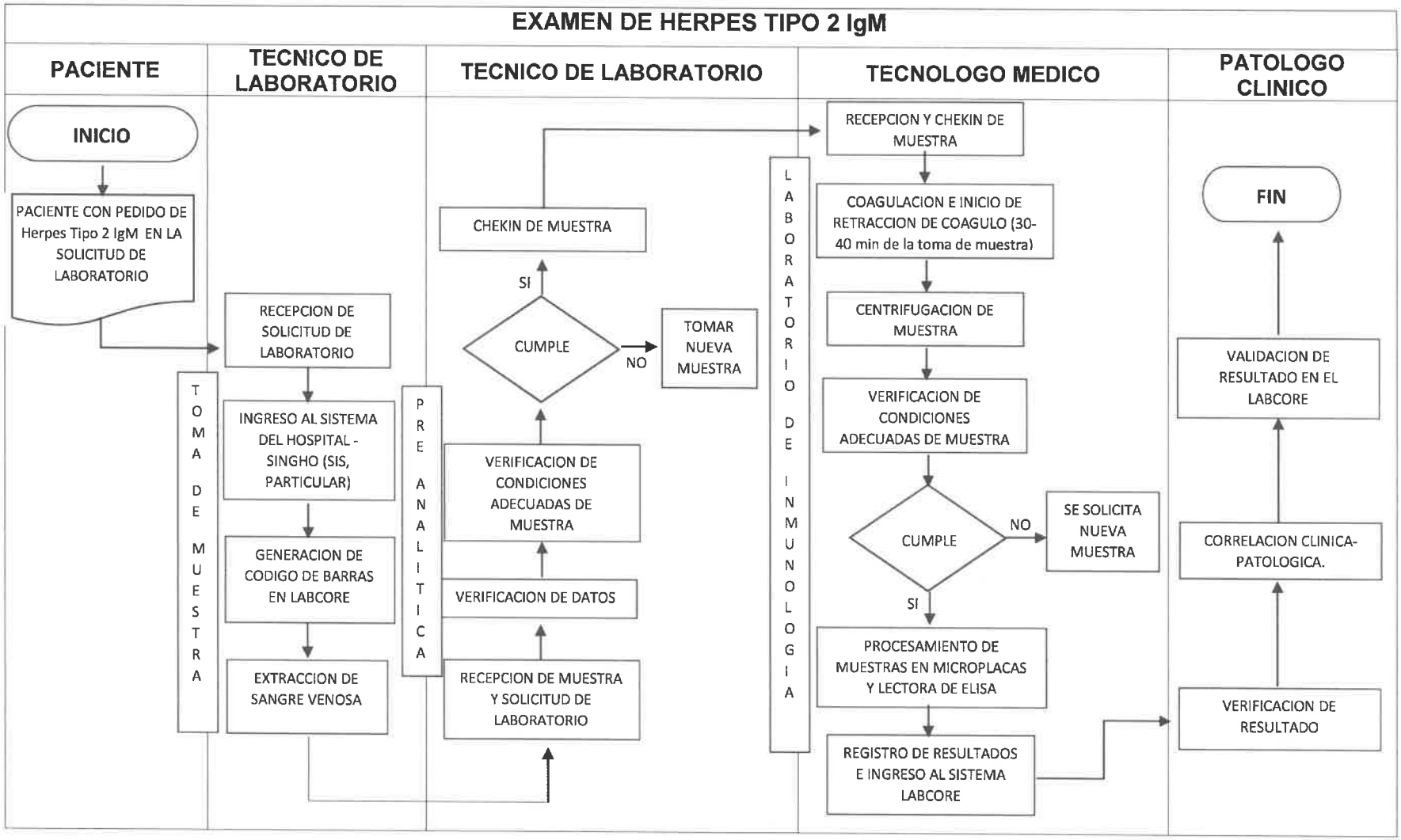
7. Inserto de HERPES SIMPLEX 2 ELISA IgM, Vircell Microbiologists.

8. Inserto de ELISA anti VHS-2 (gG2) (IgM). Referencia EI 2532-9601-2 M de EUROIMMUN.

VIII. ANEXOS

MINISTERIO DE SALUD SMIyBM V°B° MINISTERIO DE SALUD

ANEXO 01: FLUJOGRAMA



MINISTERIO DE SALUD SMIyBM V°B° MINISTERIO DE SALUD

ANEXO 02

REACTIVIDAD CRUZADA:

La calidad del antígeno utilizado en este proceso, garantiza una alta especificidad del ELISA. En este ELISA se evita en particular el problema de que los anticuerpos contra VHS-1 reaccionen frecuentemente de forma cruzada con VHS 2 y arrojen resultados falsamente positivos. Se analizaron con el ELISA anti VHS 2 (gG2) (IgM) sueros de pacientes con infecciones causadas por diversos patógenos. Tan solo una de las 8 muestras procedentes de pacientes con infección aguda por Virus de Eptein Barr (VEB) arrojó resultado positivo. Se sabe que las infecciones por virus VEB pueden provocar una estimulación policlonal de las células B, la cual puede conducir a la formación de anticuerpos IgM contra diversos agentes infecciosos con los cuales ya haya tenido contacto el paciente. Esto puede dar lugar a resultados del ensayo falsamente positivos. (8)

Anticuerpos contra	n	ELISA anti VHS 2 (gG2) (IgM) positivo
CMV	19	0 %
Virus del sarampión	13	0 %
Virus de las paperas	11	0 %
Toxoplasma	14	7 %
VVZ	14	0 %
Virus de la rubeola	10	0 %
Borrelia	10	0 %
VEB-AC	8	12,5 %

MINISTERIO DE SALUD SMIyBM V°B° MINISTERIO DE SALUD

ANEXO 03

LIMITACIONES DEL METODO:

1. Este método está diseñado para ser utilizado con suero/plasma humano.
2. El uso de este kit requiere la cuidadosa lectura y comprensión del folleto de instrucciones. Es necesario seguir estrictamente el protocolo para obtener resultados fiables, en particular el correcto pipeteo de muestras y reactivos, lavados y tiempos de incubación.
3. Los resultados de las muestras deben ser valorados junto con la sintomatología clínica y otros procedimientos diagnósticos. El diagnóstico definitivo debe realizarse mediante técnicas de aislamiento.
4. El test no indica el lugar de la infección. No pretende sustituir al aislamiento.
5. La ausencia de un aumento significativo en el nivel de anticuerpos no excluye la posibilidad de infección.
6. Las muestras recogidas muy pronto en el transcurso de una infección pueden no tener niveles detectables de IgG. En esos casos se recomienda realizar un ensayo para determinación de IgM u obtener una segunda muestra transcurridos entre 14 y 21 días para ser ensayado en paralelo con la muestra original con el fin de determinar una seroconversión.
7. Los resultados obtenidos en la detección de IgG en neonatos deben ser interpretados con precaución, ya que las IgG maternas son transferidas pasivamente de la madre al feto antes del nacimiento. La determinación de IgM es mejor indicador de infección en niños menores de 6 meses.
8. Los resultados de determinación de anticuerpos de una muestra única no deben ser usados para el diagnóstico de una infección reciente. Se deben recoger muestras pareadas (aguda y convaleciente) para ser ensayadas paralelamente y determinar seroconversión o un incremento significativo en el nivel de anticuerpos.
9. Para la determinación de IgM se debe realizar la técnica utilizando sorbente de anticuerpos IgG humanos ya que de otro modo se pueden obtener resultados falsos positivos por la presencia de factor reumatoide o resultados falsos negativos por exceso de anticuerpos IgG.
10. Los resultados de prestaciones incluidos corresponden a estudios comparativos con equipos de referencia comerciales en una muestra poblacional definida. Pueden encontrarse pequeñas variaciones en poblaciones diferentes o con equipos de referencia distintos. (7)

MINISTERIO DE SALUD SMIyBM V°B° MINISTERIO DE SALUD

ANEXO 04

CALIBRACIONES DE LA PRUEBA:

Dado que no existe un suero de referencia internacional para la detección de los anticuerpos contra VHS-2, la calibración se llevó a cabo en unidades relativas (UR/ml).

Para todos los grupos de ensayos realizados, los valores de extinción de los calibradores así como las unidades relativas y las ratios determinadas para los controles positivo y negativo deben estar dentro de las tolerancias establecidas para cada lote. Se incluye un certificado de control de calidad que contiene estos datos. Si los controles no cumplen estos requisitos, los resultados del ensayo pueden ser imprecisos y deberá repetirse el ensayo.

Tanto el comportamiento de enlace de los anticuerpos como la actividad de la enzima usada dependen de la temperatura, y por consiguiente es recomendable utilizar un termostato para los tres pasos de incubación. Cuanto mayor sea la temperatura ambiente durante las incubaciones, mayores serán también los valores de extinción. Estas variaciones también afectan a los tiempos de incubación. Sin embargo, los calibradores están sometidos también a las mismas influencias y, por tanto, estas variaciones se compensan al final en el cálculo de los resultados. (8)

MINISTERIO DE SALUD SMIyBM V°B° MINISTERIO DE SALUD

ANEXO 05

FORMATO DE DESCRIPCION DE PROCEDIMIENTO ASISTENCIAL

Hospital Nacional Hipólito Unanue	DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA CLINICA SERVICIO DE INMUNOLOGIA PRUEBA DE HERPES TIPO 2 IgM 86696.01	Versión 1 FEB-2023

Definición: El ELISA anti VHS tipo 2 IgM, sirve para la determinación in vitro semicuantitativa de anticuerpos humanos de la clase de inmunoglobulina IgM contra la glicoproteína G2 en suero o plasma para el diagnóstico de infecciones por VHS-2.

Objetivo: Determinación semicuantitativa de anticuerpos contra VHS-2.

Requisitos:

1. Solicitud del examen de laboratorio.
2. Suero humano (incluyendo el suero recogido en tubos con separador).
3. Plasma recogido con:
   - Heparina de litio
   - EDTA di o tripotásico.
   - Citrato de sodio

N° Actividad	Descripción de actividades	Responsable
A CARGO DEL PERSONAL TECNÓLOGO MÉDICO:		
PROCESAMIENTO:		
A	Previamente al procesamiento, verificar las condiciones de temperatura y humedad del ambiente (registro de temperatura y humedad).	Tecnólogo Médico
B	Retire el kit de materiales del Refrigerador (pocillos de reactivo recubiertos, calibradores, controles, conjugado enzimático, tampón de muestra, tampón de lavado, solución de cromógeno/sustrato y solución de parada), para ser llevados a temperatura ambiente (de +18 °C a +25 °C) por aproximadamente 30 minutos antes de ser usado.	Tecnólogo Médico
C	Se inicia el procedimiento con la apertura del envoltorio protector resellable de los Pocillos microplaca. Se recomienda no abrir el envoltorio protector hasta que el contenido haya alcanzado la temperatura ambiente, para evitar que los preparados se humedezcan y guardarlos inmediatamente en el envoltorio protector los pocillos de reactivo no utilizados de una microplaca empezada y cerrarlo herméticamente. Tener en cuenta que los pocillos de reactivo recubiertos de antígeno pueden conservarse hasta 4 meses si se almacenan en seco a entre +2 °C y +8 °C.	Tecnólogo Médico
D	Utilizar suero humano, plasma con EDTA, heparina o citrato como muestra a analizar. Las muestras de los pacientes pueden conservarse hasta por 14 días a una temperatura de entre +2 °C y	Tecnólogo Médico

MINISTERIO DE SALUD SMIyBM V°B° MINISTERIO DE SALUD

<table>
<tr><td></td><td>+8 °C. Tener en cuenta que las muestras diluidas se deben incubar el mismo día que se preparan.</td><td></td></tr>
<tr><td>E</td><td>Diluir las muestras con tampón de muestra coloreado en verde en la proporción 1:101 de la siguiente manera: añadir 10 µl de muestra a 1,0 ml de tampón de muestra y mezcle bien con un vórtex. No es conveniente mezclar con la pipeta de muestreo. Incube la mezcla durante un mínimo de 10 minutos a temperatura ambiente (entre +18 °C y +25 °C).</td><td>Tecnólogo Médico</td></tr>
<tr><td>F</td><td>Agregar a cada pocillo de reactivo 100 µl tanto de calibrador como de los controles positivo y negativo o muestras de pacientes diluidas, según el esquema de pipeteo. Incubar durante 30 minutos a temperatura ambiente (+18 °C a +25 °C).
Esquema de pipeteo
<table>
<tr><th></th><th>1</th><th>2</th><th>3</th><th>4</th><th>5</th><th>6</th><th>7</th><th>8</th><th>9</th><th>10</th><th>11</th><th>12</th></tr>
<tr><td>A</td><td>C</td><td>P 6</td><td>P 14</td><td>P 22</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>B</td><td>pos</td><td>P 7</td><td>P 15</td><td>P 23</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>C</td><td>neg</td><td>P 8</td><td>P 16</td><td>P 24</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>D</td><td>P 1</td><td>P 9</td><td>P 17</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>E</td><td>P 2</td><td>P 10</td><td>P 18</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>F</td><td>P 3</td><td>P 11</td><td>P 19</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>G</td><td>P 4</td><td>P 12</td><td>P 20</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>H</td><td>P 5</td><td>P 13</td><td>P 21</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
</table></td><td>Tecnólogo Médico</td></tr>
<tr><td>G</td><td>Luego, vaciar los pocillos de reactivo y a continuación lavarlos 3 veces utilizando cada vez 300 µl de tampón de lavado diluido listo para usar.</td><td>Tecnólogo Médico</td></tr>
<tr><td>H</td><td>Para la preparación del tampón de lavado, extraer el volumen requerido del frasco con una pipeta limpia y dilúyalo en agua desionizada o destilada (1 parte de reactivo y 9 partes de agua), siendo para una tira de microplaca, 5 ml de concentrado y 45 ml de agua. El tampón de lavado se suministra en una concentración 10x. En caso de que aparezcan cristales de sal en el tampón concentrado, calentar el tampón a +37 °C y mezclarlo bien antes de diluirlo. Cabe mencionar que el tampón de lavado diluido listo para usar se conserva 4 semanas si se manipula correctamente y se almacena a entre +2 °C y +8 °C.</td><td>Tecnólogo Médico</td></tr>
<tr><td>I</td><td>Deberá dejar actuar el tampón de lavado en cada pocillo de reactivo entre 30 y 60 segundos por cada ciclo de lavado y, a continuación, aspirar o vaciar. Tras el proceso de lavado manual, sacudir enérgicamente la microplaca con las aberturas hacia abajo sobre papel absorbente para eliminar por completo los restos de tampón de lavado.</td><td>Tecnólogo Médico</td></tr>
<tr><td>J</td><td>Tener en cuenta que los restos de líquido (>10 µl) que permanezcan en los pocillos de reactivo tras el proceso de lavado pueden influir en la conversión del sustrato y dar lugar a valores de extinción falsamente bajos. Un lavado insuficiente (menos de 3</td><td>Tecnólogo Médico</td></tr>
</table>

MINISTERIO DE SALUD SMIyBM V°B° MINISTERIO DE SALUD

	ciclos de lavado, volumen insuficiente de tampón de lavado o tiempos de acción demasiado cortos) puede dar lugar a valores de extinción falsamente elevados. Las posiciones libres dentro de la tira de microplaca deben ocuparse con pocillos de reactivo vacíos con el mismo formato de placa que el del parámetro a analizar.	
K	Añadir 100 µl de conjugado enzimático (IgG antihumana marcada con peroxidasa), el cual debe mezclarse bien antes de su uso, en cada pocillo de reactivo. Luego, incubar durante 30 minutos a temperatura ambiente (entre +18 °C y +25 °C).	Tecnólogo Médico
L	Seguido, vaciar los pocillos. Y proceder a lavar según lo descrito anteriormente en el punto F y H.	Tecnólogo Médico
M	Añadir con la pipeta 100 µl de la solución de cromógeno/sustrato en cada pocillo de reactivo. Incubar durante 15 minutos a temperatura ambiente (entre +18 °C y +25 °C), tener en cuenta cerrar el frasco de solución cromógeno/sustrato inmediatamente después de su uso, ya que la solución es sensible a la luz (proteger de la exposición directa a la luz solar). La solución debe ser transparente; no debe utilizarse si presenta una coloración azulada ya antes de su uso.	Tecnólogo Médico
N	Añadir 100 µl de la solución de parada, el cual viene listo para su uso, en cada pocillo, en el mismo orden y a la misma velocidad con los que se agregó previamente la solución de cromógeno/sustrato.	Tecnólogo Médico
O	Tener en cuenta que para la medición fotométrica de la intensidad del color debe realizarse a una longitud de onda de medición de 450 nm y una longitud de onda de referencia de entre 620 nm y 650 nm, dentro de los 30 primeros minutos después de añadir la solución de parada. Antes de realizar la medición, agitar ligeramente la microplaca para asegurar la distribución homogénea de la solución colorante.	Tecnólogo Médico
P	Finalmente, introducir la microplaca trabajada en la lectora de Elisas programando 01 calibrador, 02 controles y el número de muestras a analizar, para obtener los valores de extensión del calibrador, controles y muestras, los cuales se ingresarán a unas tablas de Excel, el cual está compuesta por una fórmula para obtener el valor de la ratio.	Tecnólogo Médico
A CARGO DEL PERSONAL PATÓLOGO CLÍNICO:		
A	Verificar los resultados emitidos por la lectora de Elisas, de los controles, calibradores y muestras.	Patólogo Clínico
B	Verificar resultados transcritos al Labcore.	Patólogo Clínico
C	Validar resultados transcritos al sistema Labcore.	Patólogo Clínico
D	Correlación clínica-patológica del paciente con resultados obtenidos si se requiere.	Patólogo Clínico

MINISTERIO DE SALUD SMIyBM V°B° MINISTERIO DE SALUD

ANEXO 05

FACTORES DE PRODUCCION DEL PROCEDIMIENTO POR ACTIVIDAD

Descripción de actividades	RR.HH	Insumos		Equipamiento	Infraestructura (ambiente)	Tiempo
		Fungible	No fungible			
A CARGO DEL PERSONAL TECNÓLOGO MÉDICO:						
PROCESAMIENTO:						
A. Previamente al procesamiento, verificar las condiciones de temperatura y humedad del ambiente (registro de temperatura y humedad).	Tecnólogo Médico	Lapicero y hoja de registro	---	Termohigrometro	Laboratorio de Inmunología	1 min
B. Retire el kit de materiales del Refrigerador (pocillos de reactivo recubiertos, calibradores, controles, conjugado enzimático, tampón de muestra, tampón de lavado, solución de cromógeno/sustrato y solución de parada), para ser llevados a temperatura ambiente (de +18 °C a +25 °C) por aproximadamente 30 minutos antes de ser usado.	Tecnólogo Médico	Pocillos de reactivo	Gradillas, temporizador, micropipeta	---	Laboratorio de Inmunología	30 min
C. Se inicia el procedimiento con la apertura del envoltorio protector resellable de los Pocillos microplaca. Se recomienda no abrir el envoltorio protector hasta que el contenido haya alcanzado la temperatura ambiente, para evitar que los preparados se humedezcan y guardarlos inmediatamente en el envoltorio protector los pocillos de reactivo no utilizados de una microplaca empezada y cerrarlo herméticamente. Tener en cuenta que los	Tecnólogo Médico	Pocillos de reactivo	---	---	Laboratorio de Inmunología	1 min

MINISTERIO DE SALUD V°B° SMMBM

pocillos de reactivo recubiertos de antígeno pueden conservarse hasta 4 meses si se almacenan en seco a entre +2 °C y +8 °C.						
D. Utilizar suero humano, plasma con EDTA, heparina o citrato como muestra a analizar. Las muestras de los pacientes pueden conservarse hasta por 14 días a una temperatura de entre +2 °C y +8 °C. Tener en cuenta que las muestras diluidas se deben incubar el mismo día que se preparan.	Tecnólogo Médico	Tubo al vacío sin aditivo	---	---	Laboratorio de Inmunología	---
E. Diluir las muestras con tampón de muestra coloreado en verde en la proporción 1:101 de la siguiente manera: añadir 10 µl de muestra a 1,0 ml de tampón de muestra y mezcle bien con un vórtex. No es conveniente mezclar con la pipeta de muestreo. Incube la mezcla durante un mínimo de 10 minutos a temperatura ambiente (entre +18 °C y +25 °C).	Tecnólogo Médico	Pocillos de reactivo	Micropipeta	---	Laboratorio de Inmunología	5 min
F. Agregar a cada pocillo de reactivo 100 µl tanto de calibrador como de los controles positivo y negativo o muestras de pacientes diluidas, según el esquema de pipeteo. Incubar durante 30 minutos a temperatura ambiente (+18 °C a +25 °C). **Esquema de pipeteo** 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 A C P 6 P 14 P 22 B pos P 7 P 15 P 23 C neg P 8 P 16 P 24 D P 1 P 9 P 17 E P 2 P 10 P 18 F P 3 P 11 P 19 G P 4 P 12 P 20 H P 5 P 13 P 21	Tecnólogo Médico	Pocillos de reactivo	Micropipeta	---	Laboratorio de Inmunología	5 min

MINISTERIO DE SALUD SMIyBM V°B° MINISTERIO DE SALUD

G. Luego, vaciar los pocillos de reactivo y a continuación lavarlos 3 veces utilizando cada vez 300 µl de tampón de lavado diluido listo para usar.	Tecnólogo Médico	Pocillos de reactivo	Micropipeta multicanales	---	Laboratorio de Inmunología	5 min
H. Para la preparación del tampón de lavado, extraer el volumen requerido del frasco con una micropipeta limpia y dilúyalo en agua desionizada o destilada (1 parte de reactivo y 9 partes de agua), siendo para una tira de microplaca, 5 ml de concentrado y 45 ml de agua. El tampón de lavado se suministra en una concentración 10x. En caso de que aparezcan cristales de sal en el tampón concentrado, calentar el tampón a +37 °C y mezclarlo bien antes de diluirlo. Cabe mencionar que el tampón de lavado diluido listo para usar se conserva 4 semanas si se manipula correctamente y se almacena a entre +2 °C y +8 °C.	Tecnólogo Médico	Pocillos de reactivo	Micropipeta multicanales	---	Laboratorio de Inmunología	5 min
I. Deberá dejar actuar el tampón de lavado en cada pocillo de reactivo entre 30 y 60 segundos por cada ciclo de lavado y, a continuación, aspirar o vaciar. Tras el proceso de lavado manual, sacudir enérgicamente la microplaca con las aberturas hacia abajo sobre papel absorbente para eliminar por completo los restos de tampón de lavado.	Tecnólogo Médico	Pocillos de reactivo, papel toalla	Micropipeta multicanal	---	Laboratorio de Inmunología	3 min

MINISTERIO DE SALUD SMIyBM V°B° MINISTERIO DE SALUD

J. Tener en cuenta que los restos de líquido (>10 µl) que permanezcan en los pocillos de reactivo tras el proceso de lavado pueden influir en la conversión del sustrato y dar lugar a valores de extinción falsamente bajos. Un lavado insuficiente (menos de 3 ciclos de lavado, volumen insuficiente de tampón de lavado o tiempos de acción demasiado cortos) puede dar lugar a valores de extinción falsamente elevados. Las posiciones libres dentro de la tira de microplaca deben ocuparse con pocillos de reactivo vacíos con el mismo formato de placa que el del parámetro a analizar.	Tecnólogo Médico	Pocillos de reactivo, papel toalla	Micropipeta multicanal	---	Laboratorio de Inmunología	---
K. Añadir 100 µl de conjugado enzimático (IgG antihumana marcada con peroxidasa), el cual debe mezclarse bien antes de su uso, en cada pocillo de reactivo. Luego, incubar durante 30 minutos a temperatura ambiente (entre +18 °C y +25 °C).	Tecnólogo Médico	Pocillos de reactivo	Micropipeta		Laboratorio de Inmunología	30 min
L. Seguido, vaciar los pocillos. Y proceder a lavar según lo descrito anteriormente en el punto F y H.	Tecnólogo Médico	Pocillos de reactivo	Micropipeta multicanal	---	Laboratorio de Inmunología	10 min
M. Añadir con la micropipeta 100 µl de la solución de cromógeno/sustrato en cada pocillo de reactivo. Incubar durante 15 minutos a temperatura ambiente (entre +18 °C y +25 °C), tener en cuenta cerrar el frasco de solución cromógeno/sustrato inmediatamente después de su uso, ya que la solución es sensible a la luz (proteger de la exposición directa a la luz	Tecnólogo Médico	Pocillos de reactivo	Micropipeta	---	Laboratorio de Inmunología	15 min

MINISTERIO DE SALUD SMIyBM V°B° MINISTERIO DE SALUD

solar). La solución debe ser transparente; no debe utilizarse si presenta una coloración azulada ya antes de su uso.						
N. Añadir 100 µl de la solución de parada, el cual viene listo para su uso, en cada pocillo, en el mismo orden y a la misma velocidad con los que se agregó previamente la solución de cromógeno/sustrato.	Tecnólogo Médico	Pocillos de reactivo	Micropipeta	---	Laboratorio de Inmunología	5 min
O. Tener en cuenta que para la medición fotométrica de la intensidad del color debe realizarse a una longitud de onda de medición de 450 nm y una longitud de onda de referencia de entre 620 nm y 650 nm, dentro de los 30 primeros minutos después de añadir la solución de parada. Antes de realizar la medición, agitar ligeramente la microplaca para asegurar la distribución homogénea de la solución colorante.	Tecnólogo Médico	Pocillos de reactivo	---	---	Laboratorio de Inmunología	1 min
P. Finalmente, introducir la microplaca trabajada en la lectora de Elisas programando 01 calibrador, 02 controles y el número de muestras a analizar, para obtener los valores de extensión del calibrador, controles y muestras, los cuales se ingresarán a unas tablas de Excel, el cual está compuesta por una fórmula para obtener el valor de la ratio.	Tecnólogo Médico	Pocillos de reactivo0	---	Lectora de Elisas	Laboratorio de Inmunología	3 min

MINISTERIO DE SALUD SMIyBM V° B° MINISTERIO DE SALUD

A CARGO DEL PERSONAL PATOLOGO CLINICO:						
A. Verificar los resultados emitidos por la lectora de Elisas, de los controles, calibradores y muestras.	Patólogo clínico	---	---	Hoja de trabajo	Laboratorio de Inmunología	5 min
B. Verificar resultados transcritos al Labcore.	Patólogo clínico	---	---	Cuadernos de registro de resultados	Laboratorio de Inmunología	5 min
C. Validar resultados transcritos al sistema Labcore.	Patólogo clínico	---	---	Labcore	Laboratorio de Inmunología	30 seg
D. Correlación clínica-patológica del paciente con resultados obtenidos si se requiere.	Patólogo clínico	---	---	Historia clínica	Laboratorio de Inmunología	15 min

MINISTERIO DE SALUD SMIyBM V°B° MINISTERIO DE SALUD

ANEXO 06

FICHA EL INDICADOR

TASA DE SOLICITUD DE LA PRUEBA DE HERPES TIPO 2 IgM	
CONCEPTO / DEFINICION	Medición de la cantidad de Herpes Tipo 2 IgM que se procesa en comparación del resto de pruebas del Servicio de Inmunología.
OBJETIVO	Determinar el porcentaje de Herpes Tipo 2 IgM que se procesa del total de pruebas que procesa el Servicio de Inmunología.
FORMULA DE CALCULO	N° de pruebas de Herpes Tipo 2 IgM procesadas en Inmunología mensual / N° total de pruebas procesadas en Inmunología mensual x 100
FUENTE DE DATOS	Estadística mensual del Servicio de Inmunología.
PERIODICIDAD	Mensual.
INTERPRETACION	Frecuencia de solicitud de la Herpes Tipo 2 IgM del HNHU
ESTANDAR	≥ 10%

MINISTERIO DE SALUD SMIyBM V°B° MINISTERIO DE SALUD

Dra. Astrid Rodriguez Agreda
PATOLOGO CLINICO
CMP: 58289 RNE: 39224
HOSPITAL NACIONAL HIPOLITO UNANUE

HOSPITAL NACIONAL HIPOLITO UNANUE

GUÍA DE PROCEDIMIENTO ASISTENCIAL: EXAMEN DE HERPES SIMPLE TIPO 2 IgG

Equipo de Gestión del Hospital Nacional Hipólito Unánue

M.C. Andrés Martín Alcántara Díaz
Director General

M.C. Andrés Martín Alcántara Díaz
Director Adjunto

ECON: Jorge Luis Peinado Silva
Director Administrativo

M.C. Silvia Paola Vargas Chugo
Jefa de la Oficina de Gestión de La Calidad

MINISTERIO DE SALUD SMIyBM V°B° MINISTERIO DE SALUD

Grupo Elaborador de Guía de Procedimiento Asistencial: EXAMEN DE HERPES SIMPLE TIPO 2 IgG

M.C. PATIÑO SOTO GLADYS LEANDRA	JEFE DEL DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA CLINICA Y ANATOMIA PATOLOGICA
M.C. SIERRA CHAVEZ ELIZETT	JEFE DEL SERVICIO DE MICROBIOLOGIA, INMUNOLOGIA Y BIOLOGIA MOLECULAR
M.C. RODRIGUEZ AGREDA ASTRID	MÉDICO ASISTENCIAL DE INMUNOLOGIA

MINISTERIO DE SALUD SMIyBM V°B° MINISTERIO DE SALUD

INDICE

	INTRODUCCION	5
	DECLARACION DE CONFLICTOS DE INTERES	6
I.	FINALIDAD Y JUSTIFICACION	7
II.	OBJETIVOS	7
	2.1 OBJETIVO GENERAL	7
	2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	7
III.	ÁMBITO DE APLICACIÓN	8
IV.	PROCEDIMIENTO A ESTANDARIZAR	8
V.	CONSIDERACIONES GENERALES	8
	5.1 DEFINICIONES OPERATIVAS	8
	5.2 CONCEPTOS BASICOS	9
	5.3 REQUERIMIENTOS BASICOS	10
	5.3.1 RECURSOS HUMANOS	11
	5.3.2 RECURSOS MATERIALES	11
	• EQUIPOS BIOMÉDICOS	11
	• MATERIAL MÉDICO NO FUNGIBLE	11
	• MATERIAL MÉDICO FUNGIBLE	11
	5.4 POBLACION DIANA	11
VI.	CONSIDERACIONES ESPECÍFICAS	11
	6.1 METODOLOGIA	11
	6.2 DESCRIPCIÓN DETALLADA DE ACTIVIDADES Y PROCEDIMIENTOS	12
	6.3 INDICACIONES	15
	6.4 CONTRAINDICACIONES	16
	6.5 COMPLICACIONES	16
	6.6 RECOMENDACIONES	17
	6.7 INDICADORES DE EVALUACION	17
VII.	REFERENCIAS BLIBLIOGRAFICAS	17
VIII.	ANEXOS	17

MINISTERIO DE SALUD SMIyBM V°B° MINISTERIO DE SALUD

INTRODUCCION

El herpes es una infección viral generalizada causada por el virus del herpes simple (HSV) que no tiene cura permanente hasta la fecha. El subtipo HSV-2, el cual se trata en la presente guía, se sabe que causa una variedad de síntomas, que van desde agudos hasta crónicos, es altamente contagioso y puede transmitirse a través de cualquier tipo de contacto físico. Además, la eliminación viral también puede ocurrir a partir de infecciones asintomáticas. Por lo tanto, se necesita una detección temprana y precisa de HSV para prevenir la transmisión de esta infección.

El herpes se puede diagnosticar de dos maneras, ya sea detectando la presencia del virus en las lesiones o los anticuerpos en la sangre. Hay diferentes técnicas de detección disponibles que incluyen diferentes ensayos bioquímicos, microscopía y amplificación de ácidos nucleicos.

Para seleccionar la mejor prueba para un paciente, es fundamental conocer el rendimiento, accesibilidad y las limitaciones de cada prueba, en este caso la prueba de herpes simple tipo 2 IgG por ELISA.

Por ello, la importancia del dosaje de anticuerpos contra el virus herpes simple tipo 2 IgG a los pacientes con sospecha de infección por Virus de Herpes simple tipo 2 que acuden a nuestra institución.

La presente Guía del Examen de Herpes Simple tipo 2 IgG, tiene como objetico estandarizar su procesamiento operativo para así realizarlo con la mayor seguridad posible.

MINISTERIO DE SALUD SMIyBM V°B° MINISTERIO DE SALUD

DECLARACIÓN DE CONFLICTO DE INTERESES

Los siguientes profesionales firmantes, declaramos no tener conflicto de interés con respecto a las recomendaciones de la Guía de Procedimiento Asistencial, no tener ningún tipo de relación financiera o haber recibido financiación alguna por cualquier actividad en el ámbito profesional académico o científico.

GRUPO ELABORADOR DE LA GUIA DE PROCEDIMIENTO ASISTENCIAL	DEPARTAMENTO/ SERVICIO	FIRMA Y SELLO
M.C. PATIÑO SOTO GLADYS LEANDRA	JEFE DEL DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA CLINICA Y ANATOMIA PATOLOGICA	MINISTERIO DE SALUD HOSPITAL NACIONAL HIPÓLITO UNANUE ..... Dra. GLADYS LEANDRA PATIÑO SOTO PATOLOGA CLINICA C.M.P. 30761 R.N.E. 27992 Jefe del Dpto. Patología Clínica y Anatomía Patológica
M.C. SIERRA CHAVEZ ELIZETT	JEFE DEL SERVICIO DE MICROBIOLOGIA, INMUNOLOGIA Y BIOLOGIA MOLECULAR	MINISTERIO DE SALUD HOSPITAL NACIONAL HIPÓLITO UNANUE ..... Dra. Elizett Sierra Chávez JEFE DEL SERVICIO DE MICROBIOLOGIA INMUNOLOGIA Y BIOLOGIA MOLECULAR CMP 48166 RNE ...
M.C. RODRIGUEZ AGREDA ASTRID	MÉDICO ASISTENCIAL DE INMUNOLOGIA	..... Dra. Astrid Rodriguez Agreda PATOLOGO CLÍNICO CMP: 58289 RNE: 39224 HOSPITAL NACIONAL HIPOLITO UNANUE

LIMA 20 FEBRERO DEL 2023

MINISTERIO DE SALUD SMIyBM ..... V°B° MINISTERIO DE SALUD

GUÍA DE PROCEDIMIENTOASISTENCIAL: EXAMEN DE HERPES SIMPLE TIPO 2 IgG

I. FINALIDAD Y JUSTIFICACION:

Finalidad:

La finalidad de la presente Guía de Procedimiento Asistencial: Examen de Herpes Simple Tipo 2 IgG es dar a conocer la importancia del análisis de este analito, así como la importancia en estandarizar el procesamiento del mismo. De la misma forma, lograr un uso adecuado y racional en el empleo de esta prueba con las indicaciones dadas en esta guía.

Justificación:

El dosaje de Herpes Simple Tipo 2 IgG es importante para los pacientes que presentan lesiones genitales ya que se conoce que el Virus Herpes Simple -2 es el más comúnmente considerado como el causante de esas lesiones. A pesar de esto, la mayoría de los brotes de la infección se presentarán con síntomas inespecíficos, como picazón genital, irritación y excoriaciones, lo que puede retrasar el diagnóstico y el tratamiento. Como resultado, puede ocurrir una mayor exposición de personas no infectadas.

II. OBJETIVOS

1.1 Objetivo General

Contar con una Guía de Procedimiento Asistencial: Examen de Herpes Simple Tipo 2 IgG para que el personal asistencial del Laboratorio de Inmunología de nuestro hospital realice dicho procedimiento en forma estandarizada y con la mayor seguridad.

2.2 Objetivos Específicos

- Estandarizar la realización del Examen de Herpes Simple Tipo 2 IgG.
- Difundir el uso de la presente Guía de Procedimiento Asistencial a todo el personal asistencial del Hospital Nacional Hipólito Unanue.

MINISTERIO DE SALUD SMIyBM V°B° MINISTERIO DE SALUD

III. ÁMBITO DE APLICACIÓN

La presente Guía de Procedimientos Asistenciales es de aplicación y cumplimiento obligatorio en todas las unidades orgánicas asistenciales del Hospital Nacional Hipólito Unanue.

IV. PROCEDIMIENTO A ESTANDARIZAR

Examen de Herpes Simple Tipo 2 IgG
CPMS: 86696

V. CONSIDERACIONES GENERALES

5.1 DEFINICIONES OPERATIVAS

ELISA: *Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay,* ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas. Es una técnica de inmunoensayo en la cual un antígeno inmovilizado se detecta mediante un anticuerpo enlazado a una enzima capaz de generar un producto detectable, como cambio de color o algún otro tipo. En nuestro caso el envase de ensayo contiene tiras de microplaca, cada una con 8 pocillos de reactivo separables, recubiertas con glicoproteína G2 purificada. En el primer paso del análisis, se incuban los pocillos de reactivo con muestras de pacientes diluidas. En el caso de muestras positivas, los anticuerpos específicos de la clase IgG (también IgA e IgM) se ligan a los antígenos correspondientes. Para detectar estos anticuerpos, se lleva a cabo una segunda incubación usando un anticuerpo anti-IgG humana marcado con una enzima (conjugado enzimático) que cataliza una reacción coloreada.

Antígeno: compuesto con glicoproteína purificada mediante cromatografía de afinidad G2, una proteína de membrana que está presente exclusivamente en el Virus Herpes Simple -2, pero no en el Virus Herpes Simple -1 y que se encuentran recubiertos en los pocillos de reactivo.

Sensibilidad de detección: El límite de detección inferior se define como el promedio de una muestra libre de analitos más el triple de la desviación

MINISTERIO DE SALUD SMIyBM V°B° MINISTERIO DE SALUD

estándar, e indica el título más bajo de anticuerpos detectable inequívocamente. El límite de detección inferior del ELISA anti VHS-2 (gG2) se sitúa en 1,4 UR/ml.

Material de Control: Material de composición conocida usado con el propósito de dar seguimiento al proceso analítico, que debe ser similar a las muestras que están siendo analizadas como muestras problema, en cuanto a la matriz, y al estado físico de preparación y el intervalo de concentración del analito.

Labcore: es un software de gestión de datos de laboratorio (LDMS) basado en web altamente configurable, completo e interoperable que se centra en mejorar la productividad y reducir el papel para los laboratorios analíticos.

Validación: Proceso en el cual se analizan los resultados desde diversos puntos de vista para dar una interpretación congruente, acorde al estado clínico del paciente.

5.2 CONCEPTOS BASICOS:

Virus Herpes Simple - 2: se transmite a través del contacto directo de secciones en un individuo seropositivo que está eliminando activamente el virus. El virus afecta preferentemente la piel y las membranas mucosas, invadiendo las células epiteliales en la exposición inicial y finalmente replicándose intracelularmente en ese sitio. Después de la exposición inicial y la resolución de los síntomas, en un promedio de 10 a 14 días, el virus permanece inactivo en la vaina periaxonal de los nervios sensoriales de los ganglios trigémino, cervical, lumbosacro o autonómico. En estos lugares, la replicación viral a menudo está controlada por el sistema inmunitario del paciente y permanece en un estado latente solo para reaccionar más tarde en la vida. Cuando ocurre la reactivación, el virus viaja a través de los nervios sensoriales hasta que llega a los sitios mucocutáneos donde luego tiene lugar la replicación y conduce a grupos vesiculares en el sitio dermatológico de esa neurona sensorial. (1)

MINISTERIO DE SALUD SMIyBM V°B° MINISTERIO DE SALUD

La infección neurológica por el virus del herpes simple tipo 2 (VHS-2): es responsable de una morbimortalidad significativa y es una de las pocas infecciones virales con terapia específica y efectiva. Se caracteriza clínicamente por un inicio agudo y por la tríada de fiebre, cefalea asociados o no a síntomas neurológicos y cambios de comportamiento, principalmente secundarios a la afectación del lóbulo temporal. Aunque el diagnóstico temprano es crítico para la terapia, las secuelas neurológicas son comunes. Ante la sospecha diagnóstica se debe iniciar tratamiento empírico con aciclovir hasta que se realice la confirmación del diagnóstico, dada su baja toxicidad y alta eficacia cuando es administrado tempranamente. El diagnóstico de certeza viene dado por la asociación de la reacción en cadena de la polimerasa para virus herpes, la tomografía computarizada, la resonancia magnética, el electroencefalograma y el análisis del líquido cefalorraquídeo. (2)

5.3 REQUERIMIENTOS BÁSICOS

5.3.1 Recursos Humanos:

- Médico especialista en Patología Clínica.
- Licenciado en Tecnología Médica.

5.3.2 Recursos Materiales:

- **Equipos Biomédicos**
  - Centrifuga de tubos
  - Lector de placas Elisa

- **Material Médico no Fungible:**
  - Micropipetas calibradas.
  - Temporizador

- **Material Médico Fungible:**
  - Papel toalla
  - Tubo al vacío sin aditivo
  - Pocillos de reactivo recubiertos de antígeno
  - Control Positivo
  - Control Negativo

MINISTERIO DE SALUD SMIyBM V°B° MINISTERIO DE SALUD

- Calibrador 1
- Calibrador 2
- Calibrador 3
- Conjugado enzimático
- Tampón de muestra
- Tampón de lavado
- Solución de cromógeno/sustrato
- Solución de parada
- Tips de 10 a 200 µl
- Agua destilada

5.4 POBLACION DIANA:

Población de todos los grupos etarios.

VI. CONSIDERACIONES ESPECÍFICAS

6.1 METODOLOGÍA:

Se realizó la búsqueda bibliográfica del término "Comparación de métodos comerciales de inmunotransferencia, ELISA e inmunoensayo quimioluminiscente para detectar virus del herpes simple -1 y -2 IgG específicos de tipo" en los siguientes motores de búsqueda:

PUBMED

Encontrándose lo siguiente:

En la comparación de los tres métodos mostró que todos tenían características de rendimiento excelentes y comparables para detectar IgG específica de tipo para HSV-1 y HSV-2. El método Inmunoblot es ventajoso porque permite la determinación simultánea de HSV-1 y HSV-2 IgG en un solo ensayo, y el inmunoensayo quimioluminiscente BIO-FLASH ® tiene las ventajas de un tiempo de manejo más corto y no requiere alícuotas de las muestras antes de analizarlas. Sin embargo, ELISA tiene el inconveniente de generar una cantidad relativamente grande de resultados indeterminados, lo que dificulta la caracterización correcta de las muestras. (4)

MINISTERIO DE SALUD SMIyBM V°B° MINISTERIO DE SALUD

6.2 DESCRIPCIÓN DETALLADA DE ACTIVIDADES Y PROCEDIMIENTO

El ELISA anti VHS tipo 2 IgG, sirve para la determinación in vitro cuantitativa de anticuerpos humanos de la clase de inmunoglobulina IgG contra la glicoproteína G2 específica del VHS-2 en suero o plasma para el diagnóstico de infecciones por VHS-2, el procesamiento del mismo se realiza de la siguiente manera:

A CARGO DEL PERSONAL TECNÓLOGO MÉDICO:

1. PROCESAMIENTO:

A. Previamente al procesamiento, verificar las condiciones de temperatura y humedad del ambiente (registro de temperatura y humedad).
B. Retire el kit de materiales del Refrigerador (pocillos de reactivo recubiertos, calibradores, controles, conjugado enzimático, tampón de muestra, tampón de lavado, solución de cromógeno/sustrato y solución de parada), para ser llevados a temperatura ambiente (de +18 °C a +25 °C) por aproximadamente 30 minutos antes de ser usado.
C. Se inicia el procedimiento con la apertura del envoltorio protector resellable de los Pocillos microplaca. Se recomienda no abrir el envoltorio protector hasta que el contenido haya alcanzado la temperatura ambiente, para evitar que los preparados se humedezcan y guardarlos inmediatamente en el envoltorio protector los pocillos de reactivo no utilizados de una microplaca empezada y cerrarlo herméticamente. Tener en cuenta que los pocillos de reactivo recubiertos de antígeno pueden conservarse hasta 4 meses si se almacenan en seco a entre +2 °C y +8 °C.
D. Utilizar suero humano, plasma con EDTA, heparina o citrato como muestra a analizar. Las muestras de los pacientes pueden conservarse hasta por 14 días a una temperatura de entre +2 °C y +8 °C. Tener en cuenta que las muestras diluidas se deben incubar el mismo día que se preparan.

MINISTERIO DE SALUD SMIyBM V°B° MINISTERIO DE SALUD

E. Diluir las muestras con tampón de muestra en la proporción 1:101 de la siguiente manera: añadir 10 µl de muestra a 1,0 ml de tampón de muestra y mezcle bien con un vórtex. No es conveniente mezclar con la pipeta de muestreo.

F. Agregar a cada pocillo de reactivo 100 µl tanto de calibrador como de los controles positivo y negativo o muestras de pacientes diluidas, según el esquema de pipeteo. Incubar durante 30 minutos a temperatura ambiente (+18 °C a +25 °C).

Esquema de pipeteo

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	C 2	P 6	P 14	P 22			C 1	P 4	P 12	P 20		
B	pos.	P 7	P 15	P 23			C 2	P 5	P 13	P 21		
C	neg.	P 8	P 16	P 24			C 3	P 6	P 14	P 22		
D	P 1	P 9	P 17				pos.	P 7	P 15	P 23		
E	P 2	P 10	P 18				neg.	P 8	P 16	P 24		
F	P 3	P 11	P 19				P 1	P 9	P 17			
G	P 4	P 12	P 20				P 2	P 10	P 18			
H	P 5	P 13	P 21				P 3	P 11	P 19			

G. Luego, vaciar los pocillos de reactivo y a continuación lavarlos 3 veces utilizando cada vez 300 µl de tampón de lavado diluido listo para usar.

H. Para la preparación del tampón de lavado, extraer el volumen requerido del frasco con una pipeta limpia y dilúyalo en agua desionizada o destilada (1 parte de reactivo y 9 partes de agua), siendo para una tira de microplaca, 5 ml de concentrado y 45 ml de agua. El tampón de lavado se suministra en una concentración 10x. En caso de que aparezcan cristales de sal en el tampón concentrado, calentar el tampón a +37 °C y mezclarlo bien antes de diluirlo. Cabe mencionar que el tampón de lavado diluido listo para usar se conserva 4 semanas si se manipula correctamente y se almacena a entre +2 °C y +8 °C.

I. Deberá dejar actuar el tampón de lavado en cada pocillo de reactivo entre 30 y 60 segundos por cada ciclo de lavado y, a continuación, aspirar o vaciar. Tras el proceso de lavado manual, sacudir enérgicamente la microplaca con las aberturas hacia

MINISTERIO DE SALUD SMIyBM V°B° MINISTERIO DE SALUD

abajo sobre papel absorbente para eliminar por completo los restos de tampón de lavado.

J. Tener en cuenta que los restos de líquido (>10 µl) que permanezcan en los pocillos de reactivo tras el proceso de lavado pueden influir en la conversión del sustrato y dar lugar a valores de extinción falsamente bajos. Un lavado insuficiente (menos de 3 ciclos de lavado, volumen insuficiente de tampón de lavado o tiempos de acción demasiado cortos) puede dar lugar a valores de extinción falsamente elevados. Las posiciones libres dentro de la tira de microplaca deben ocuparse con pocillos de reactivo vacíos con el mismo formato de placa que el del parámetro a analizar.

K. Añadir 100 µl de conjugado enzimático (IgG antihumana marcada con peroxidasa), el cual debe mezclarse bien antes de su uso, en cada pocillo de reactivo. Luego, incubar durante 30 minutos a temperatura ambiente (entre +18 °C y +25 °C).

L. Seguido, vaciar los pocillos. Y proceder a lavar según lo descrito anteriormente en el punto F y H.

M. Añadir con la pipeta 100 µl de la solución de cromógeno/sustrato en cada pocillo de reactivo. Incubar durante 15 minutos a temperatura ambiente (entre +18 °C y +25 °C), tener en cuenta cerrar el frasco de solución cromógeno/sustrato inmediatamente después de su uso, ya que la solución es sensible a la luz (proteger de la exposición directa a la luz solar). La solución debe ser transparente; no debe utilizarse si presenta una coloración azulada ya antes de su uso.

N. Añadir 100 µl de la solución de parada, el cual viene listo para su uso, en cada pocillo, en el mismo orden y a la misma velocidad con los que se agregó previamente la solución de cromógeno/sustrato.

O. Tener en cuenta que para la medición fotométrica de la intensidad del color debe realizarse a una longitud de onda de medición de 450 nm y una longitud de onda de referencia de entre 620 nm y 650 nm, dentro de los 30 primeros minutos después de añadir la solución de parada. Antes de realizar la medición, agitar

MINISTERIO DE SALUD SMIyBM V°B° MINISTERIO DE SALUD

ligeramente la microplaca para asegurar la distribución homogénea de la solución colorante.

P. Finalmente, introducir la microplaca trabajada en la lectora de Elisas programando los 03 calibradores, 02 controles y el número de muestras a analizar, para realizar el cálculo de la curva de los calibradores. Una vez trazados los valores de extinción medidos para los 3 calibradores contra las concentraciones correspondientes (lineal/lineal), se puede obtener una curva estándar que permite determinar la concentración de anticuerpos en las muestras desconocidas. Para el cálculo por ordenador de la curva estándar, se debería escoger el método de evaluación «punto a punto».

A CARGO DEL PERSONAL PATÓLOGO CLÍNICO:

A. Verificar los resultados emitidos por la lectora de Elisas, de los controles, calibradores y muestras.
B. Verificar resultados transcritos al Labcore.
C. Validar resultados transcritos al sistema Labcore.
D. Correlación clínica-patológica del paciente con resultados obtenidos si se requiere.

6.3 INDICACIONES

- Para determinar la infección pasada con Virus Herpes Simple -2.
- Historia reciente de enfermedad compatible con un herpes genital sin lesiones aparentes.
- Primoinfección herpética o infección inicial sintomática recientemente adquiridas (hace más de 6 semanas) en que los métodos directos son negativos o inaccesibles.
- Existencia de lesiones recurrentes de naturaleza presuntamente herpética en que no se puede demostrar la presencia del virus mediante métodos directos.
- Para el diagnóstico de la primoinfección la demostración de seroconversión de IgGs es paradigmática.

MINISTERIO DE SALUD SMIyBM V°B° MINISTERIO DE SALUD

6.4 CONTRAINDICACIONES

- No aplica.

6.5 COMPLICACIONES:

Esta descrito, en el inserto de este ensayo ELISA, que el test no se verá afectado a determinadas concentraciones de ciertas sustancias endógenas, por lo tanto, no generaría algún impacto en los resultados con estas concentraciones:

Bilirrubina hasta 0,4 mg/ml
Hemoglobina hasta 10mg/dl
Trigliceridos hasta 20 mg/ml

Pasadas estas concentraciones, si podría alterar los resultados de la prueba.

6.6 RECOMENDACIONES:

EXAMEN DE HERPES SIMPLE TIPO 2 IgG	NIVEL DE EVIDENCIA	GRADO DE RECOMENDACION
Deben utilizarse ensayos que detecten anticuerpos contra las glicoproteínas gG1 y gG2 antigénicamente únicas.	II	B
Las tasas de seroprevalencia del VHS en la población local y la presencia o ausencia de factores de riesgo de Herpes Genital influyen en el valor predictivo positivo de los ensayos de anticuerpos específicos del tipo de VHS. Los datos epidemiológicos locales y las características demográficas de los pacientes deben guiar las pruebas y la interpretación de los resultados.	III	B
En pacientes con baja probabilidad de Herpes Genital, un resultado positivo de HSV-2 debe confirmarse en una muestra repetida o mediante el uso de un ensayo diferente.	III	B
Una mujer embarazada que no tiene antecedentes de HSV pero que ha tenido una pareja con HSV genital debe someterse a pruebas serológicas específicas de tipo para determinar su riesgo de adquirir HSV genital en el embarazo antes del embarazo o tan pronto como sea posible en el embarazo. Las pruebas deben repetirse a las 32 a 34 semanas de gestación.	III	B

MINISTERIO DE SALUD SMIyBM V°B° MINISTERIO DE SALUD

6.7 INDICADORES DE EVALUACION:

- Medición de la cantidad de Herpes Simple Tipo 2 IgG que se procesa en comparación del resto de pruebas del Servicio de Inmunología. (Ver Anexo 06).

VII. REFERENCIAS BLIBLIOGRÁFICAS

1. Jacob Mathew Jr; Amit Sapra. Herpes Simplex Type 2.[1] Parkview Medical Center [2]Southern Illinois University School of Medicine. June 12, 2022. Disponible en: https://www.statpearls.com/ArticleLibrary/viewarticle/688

2. Encefalitis por el virus de herpes simple tipo 2 en un paciente adulto sano: un caso inusual. Rev. perú. med. exp. salud publica vol.37 no.3 Lima jul-sep 2020. Disponible en: http://dx.doi.org/10.17843/rpmesp.2020.373.4752

3. Deborah M. Money, MD, Marc Steben, MD, Herpes genital. Sexo transm infectar. 2017 diciembre; 82 (Suplemento 4): iv31–iv34. No. 208-Guidelines for the Management of Herpes Simplex Virus in Pregnancy. Disponible en: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25153069/

4. Fernando de Ory,[1,2] María-Eulalia Guisasola,[1,2] Pilar Balfagón,[1] and Juan Carlos Sanz[2,3] Comparison of commercial methods of immunoblot, ELISA, and chemiluminescent immunoassay for detecting type-specific herpes simplex viruses-1 and -2 IgG. J Clin Lab Anal. 2018 Jan; 32(1): e22203. Disponible en: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6817228/

5. Peuli Nath, Md Alamgir Kabir, Somaiyeh Khoubafarin Doust, and Aniruddha Ray. Diagnosis of Herpes Simplex Virus: Laboratory and Point-of-Care Techniques. Infect Dis Rep. 2021 Jun; 13(2): 518–539. Disponible en: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8293188/

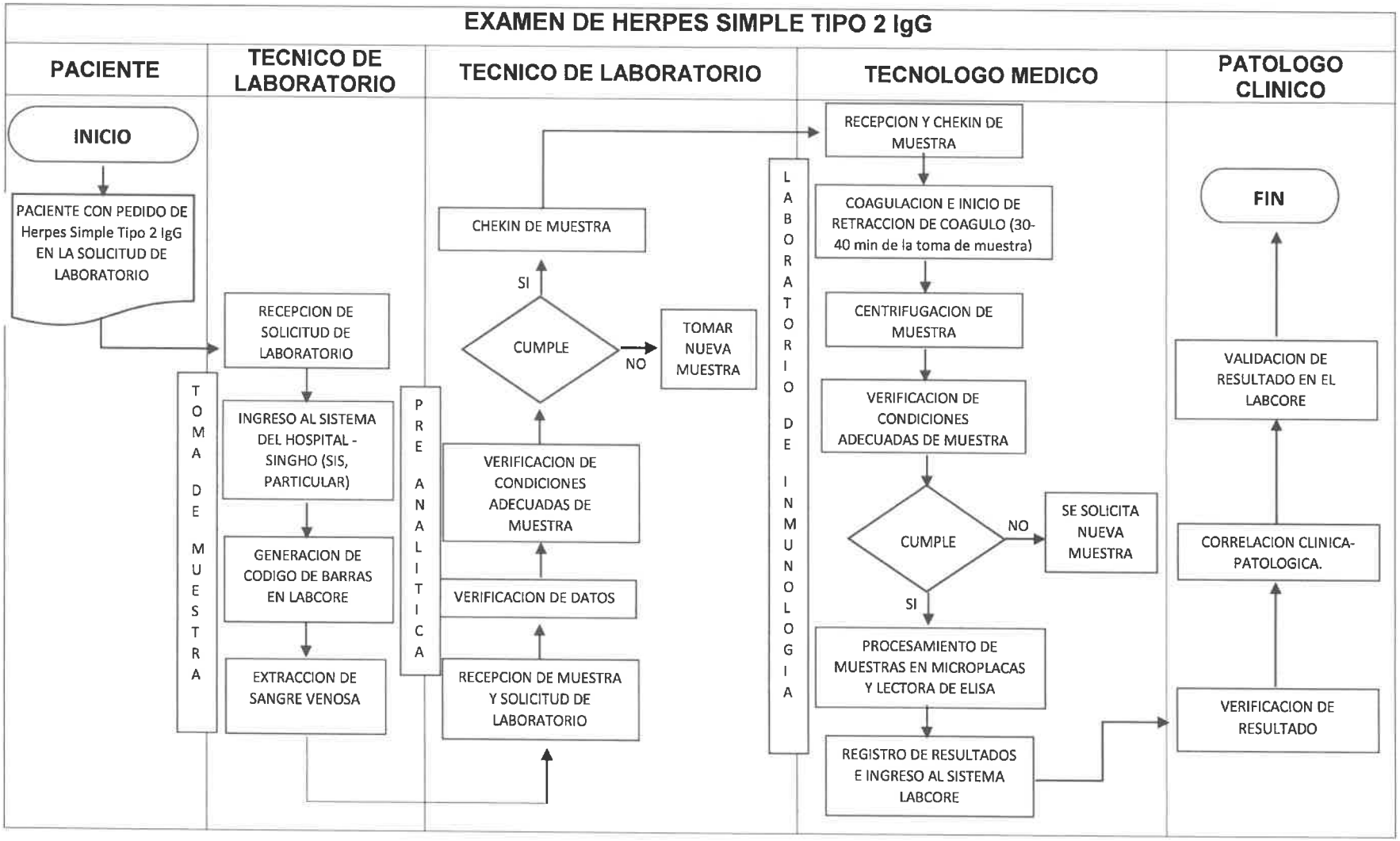
6. Inserto de HERPES SIMPLEX 2 ELISA IgG, Vircell Microbiologists.

7. Inserto de ELISA anti VHS-2 (gG2) (IgG). Referencia EI 2532-9601-2 G de EUROIMMUN.

VIII. ANEXOS

MINISTERIO DE SALUD SMIyBM V°B° MINISTERIO DE SALUD

ANEXO 01: FLUJOGRAMA



MINISTERIO DE SALUD SMIyBM V°B°

ANEXO 02

LIMITACIONES DEL METODO:

1. Este método está diseñado para ser utilizado con suero/plasma humano.
2. El uso de este kit requiere la cuidadosa lectura y comprensión del folleto de instrucciones. Es necesario seguir estrictamente el protocolo para obtener resultados fiables, en particular el correcto pipeteo de muestras y reactivos, lavados y tiempos de incubación.
3. Los resultados de las muestras deben ser valorados junto con la sintomatología clínica y otros procedimientos diagnósticos. El diagnóstico definitivo debe realizarse mediante técnicas de aislamiento.
4. El test no indica el lugar de la infección. No pretende sustituir al aislamiento.
5. La ausencia de un aumento significativo en el nivel de anticuerpos no excluye la posibilidad de infección.
6. Las muestras recogidas muy pronto en el transcurso de una infección pueden no tener niveles detectables de IgG. En esos casos se recomienda realizar un ensayo para determinación de IgM u obtener una segunda muestra transcurridos entre 14 y 21 días para ser ensayado en paralelo con la muestra original con el fin de determinar una seroconversión.
7. Los resultados obtenidos en la detección de IgG en neonatos deben ser interpretados con precaución, ya que las IgG maternas son transferidas pasivamente de la madre al feto antes del nacimiento. La determinación de IgM es mejor indicador de infección en niños menores de 6 meses.
8. Los resultados de determinación de anticuerpos de una muestra única no deben ser usados para el diagnóstico de una infección reciente. Se deben recoger muestras pareadas (aguda y convaleciente) para ser ensayadas paralelamente y determinar seroconversión o un incremento significativo en el nivel de anticuerpos.
9. Para la determinación de IgM se debe realizar la técnica utilizando sorbente de anticuerpos IgG humanos ya que de otro modo se pueden obtener resultados falsos positivos por la presencia de factor reumatoide o resultados falsos negativos por exceso de anticuerpos IgG.
10. Los resultados de prestaciones incluidos corresponden a estudios comparativos con equipos de referencia comerciales en una muestra poblacional definida. Pueden encontrarse pequeñas variaciones en poblaciones diferentes o con equipos de referencia distintos. (6)

MINISTERIO DE SALUD SMIyBM V°B° MINISTERIO DE SALUD

ANEXO 03

CALIBRACIONES DE LA PRUEBA:

Dado que no existe un suero de referencia internacional para la detección de los anticuerpos contra VHS-2, la calibración se llevó a cabo en unidades relativas (UR/ml). Para todos los grupos de ensayos realizados, los valores de extinción de los calibradores así como las unidades relativas y las ratios determinadas para los controles positivo y negativo deben estar dentro de las tolerancias establecidas para cada lote. Se incluye un certificado de control de calidad que contiene estos datos. Si los controles no cumplen estos requisitos, los resultados del ensayo pueden ser imprecisos y deberá repetirse el ensayo. Tanto el comportamiento de enlace de los anticuerpos como la actividad de la enzima usada dependen de la temperatura, y por consiguiente es recomendable utilizar un termostato para los tres pasos de incubación. Cuanto mayor sea la temperatura ambiente durante las incubaciones, mayores serán también los valores de extinción. Estas variaciones también afectan a los tiempos de incubación. Sin embargo, los calibradores están sometidos también a las mismas influencias y, por tanto, estas variaciones se compensan al final en el cálculo de los resultados. (7)

MINISTERIO DE SALUD V°B° SMIyBM

ANEXO 04

FORMATO DE DESCRIPCION DE PROCEDIMIENTO ASISTENCIAL

Hospital Nacional Hipólito Unanue	DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA CLINICA SERVICIO DE INMUNOLOGIA PRUEBA DE HERPES SIMPLE TIPO 2 IgG 86696	Versión 1 FEB-2023

Definición: El ELISA anti VHS tipo 2 IgG, sirve para la determinación in vitro cuantitativa de anticuerpos humanos de la clase de inmunoglobulina IgG contra la glicoproteína G2 específica del VHS-2 para el diagnóstico de infecciones por VHS-2.

Objetivo: Determinación cuantitativa de anticuerpos contra VHS-2.

Requisitos:

1. Solicitud del examen de laboratorio.
2. Suero humano (incluyendo el suero recogido en tubos con separador).
3. Plasma recogido con:
   - Heparina de litio
   - EDTA di o tripotásico.
   - Citrato de sodio

N° Actividad	Descripción de actividades	Responsable
A CARGO DEL PERSONAL TECNÓLOGO MÉDICO:		
PROCESAMIENTO:		
A	Previamente al procesamiento, verificar las condiciones de temperatura y humedad del ambiente (registro de temperatura y humedad).	Tecnólogo Médico
B	Retire el kit de materiales del Refrigerador (pocillos de reactivo recubiertos, calibradores, controles, conjugado enzimático, tampón de muestra, tampón de lavado, solución de cromógeno/sustrato y solución de parada), para ser llevados a temperatura ambiente (de +18 °C a +25 °C) por aproximadamente 30 minutos antes de ser usado.	Tecnólogo Médico
C	Se inicia el procedimiento con la apertura del envoltorio protector resellable de los Pocillos microplaca. Se recomienda no abrir el envoltorio protector hasta que el contenido haya alcanzado la temperatura ambiente, para evitar que los preparados se humedezcan y guardarlos inmediatamente en el envoltorio protector los pocillos de reactivo no utilizados de una microplaca empezada y cerrarlo herméticamente. Tener en cuenta que los pocillos de reactivo recubiertos de antígeno pueden conservarse hasta 4 meses si se almacenan en seco a entre +2 °C y +8 °C.	Tecnólogo Médico
D	Utilizar suero humano, plasma con EDTA, heparina o citrato como muestra a analizar. Las muestras de los pacientes pueden conservarse hasta por 14 días a una temperatura de entre +2 °C y +8 °C. Tener en cuenta que las muestras diluidas se deben incubar el mismo día que se preparan.	Tecnólogo Médico

MINISTERIO DE SALUD SMIyBM V°B° MINISTERIO DE SALUD

<table>
<tr><td>E</td><td>Diluir las muestras con tampón de muestra en la proporción 1:101 de la siguiente manera: añadir 10 µl de muestra a 1,0 ml de tampón de muestra y mezcle bien con un vórtex. No es conveniente mezclar con la pipeta de muestreo.</td><td>Tecnólogo Médico</td></tr>
<tr><td>F</td><td>Agregar a cada pocillo de reactivo 100 µl tanto de calibrador como de los controles positivo y negativo o muestras de pacientes diluidas, según el esquema de pipeteo. Incubar durante 30 minutos a temperatura ambiente (+18 °C a +25 °C).
Esquema de pipeteo
<table>
<tr><th></th><th>1</th><th>2</th><th>3</th><th>4</th><th>5</th><th>6</th><th>7</th><th>8</th><th>9</th><th>10</th><th>11</th><th>12</th></tr>
<tr><td>A</td><td>C 2</td><td>P 6</td><td>P 14</td><td>P 22</td><td></td><td></td><td>C 1</td><td>P 4</td><td>P 12</td><td>P 20</td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>B</td><td>pos.</td><td>P 7</td><td>P 15</td><td>P 23</td><td></td><td></td><td>C 2</td><td>P 5</td><td>P 13</td><td>P 21</td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>C</td><td>neg.</td><td>P 8</td><td>P 16</td><td>P 24</td><td></td><td></td><td>C 3</td><td>P 6</td><td>P 14</td><td>P 22</td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>D</td><td>P 1</td><td>P 9</td><td>P 17</td><td></td><td></td><td></td><td>pos.</td><td>P 7</td><td>P 15</td><td>P 23</td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>E</td><td>P 2</td><td>P 10</td><td>P 18</td><td></td><td></td><td></td><td>neg.</td><td>P 8</td><td>P 16</td><td>P 24</td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>F</td><td>P 3</td><td>P 11</td><td>P 19</td><td></td><td></td><td></td><td>P 1</td><td>P 9</td><td>P 17</td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>G</td><td>P 4</td><td>P 12</td><td>P 20</td><td></td><td></td><td></td><td>P 2</td><td>P 10</td><td>P 18</td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>H</td><td>P 5</td><td>P 13</td><td>P 21</td><td></td><td></td><td></td><td>P 3</td><td>P 11</td><td>P 19</td><td></td><td></td><td></td></tr>
</table></td><td>Tecnólogo Médico</td></tr>
<tr><td>G</td><td>Luego, vaciar los pocillos de reactivo y a continuación lavarlos 3 veces utilizando cada vez 300 µl de tampón de lavado diluido listo para usar.</td><td>Tecnólogo Médico</td></tr>
<tr><td>H</td><td>Para la preparación del tampón de lavado, extraer el volumen requerido del frasco con una pipeta limpia y dilúyalo en agua desionizada o destilada (1 parte de reactivo y 9 partes de agua), siendo para una tira de microplaca, 5 ml de concentrado y 45 ml de agua. El tampón de lavado se suministra en una concentración 10x. En caso de que aparezcan cristales de sal en el tampón concentrado, calentar el tampón a +37 °C y mezclarlo bien antes de diluirlo. Cabe mencionar que el tampón de lavado diluido listo para usar se conserva 4 semanas si se manipula correctamente y se almacena a entre +2 °C y +8 °C.</td><td>Tecnólogo Médico</td></tr>
<tr><td>I</td><td>Deberá dejar actuar el tampón de lavado en cada pocillo de reactivo entre 30 y 60 segundos por cada ciclo de lavado y, a continuación, aspirar o vaciar. Tras el proceso de lavado manual, sacudir enérgicamente la microplaca con las aberturas hacia abajo sobre papel absorbente para eliminar por completo los restos de tampón de lavado.</td><td>Tecnólogo Médico</td></tr>
<tr><td>J</td><td>Tener en cuenta que los restos de líquido (>10 µl) que permanezcan en los pocillos de reactivo tras el proceso de lavado pueden influir en la conversión del sustrato y dar lugar a valores de extinción falsamente bajos. Un lavado insuficiente (menos de 3 ciclos de lavado, volumen insuficiente de tampón de lavado o tiempos de acción demasiado cortos) puede dar lugar a valores de extinción falsamente elevados. Las posiciones libres dentro de la tira</td><td>Tecnólogo Médico</td></tr>
</table>

	de microplaca deben ocuparse con pocillos de reactivo vacíos con el mismo formato de placa que el del parámetro a analizar.	
K	Añadir 100 µl de conjugado enzimático (IgG antihumana marcada con peroxidasa), el cual debe mezclarse bien antes de su uso, en cada pocillo de reactivo. Luego, incubar durante 30 minutos a temperatura ambiente (entre +18 °C y +25 °C).	Tecnólogo Médico
L	Seguido, vaciar los pocillos. Y proceder a lavar según lo descrito anteriormente en el punto F y H.	Tecnólogo Médico
M	Añadir con la pipeta 100 µl de la solución de cromógeno/sustrato en cada pocillo de reactivo. Incubar durante 15 minutos a temperatura ambiente (entre +18 °C y +25 °C), tener en cuenta cerrar el frasco de solución cromógeno/sustrato inmediatamente después de su uso, ya que la solución es sensible a la luz (proteger de la exposición directa a la luz solar). La solución debe ser transparente; no debe utilizarse si presenta una coloración azulada ya antes de su uso.	Tecnólogo Médico
N	Añadir 100 µl de la solución de parada, el cual viene listo para su uso, en cada pocillo, en el mismo orden y a la misma velocidad con los que se agregó previamente la solución de cromógeno/sustrato.	Tecnólogo Médico
O	Tener en cuenta que para la medición fotométrica de la intensidad del color debe realizarse a una longitud de onda de medición de 450 nm y una longitud de onda de referencia de entre 620 nm y 650 nm, dentro de los 30 primeros minutos después de añadir la solución de parada. Antes de realizar la medición, agitar ligeramente la microplaca para asegurar la distribución homogénea de la solución colorante.	Tecnólogo Médico
P	Finalmente, introducir la microplaca trabajada en la lectora de Elisas programando los 03 calibradores, 02 controles y el número de muestras a analizar, para realizar el cálculo de la curva de los calibradores. Una vez trazados los valores de extinción medidos para los 3 calibradores contra las concentraciones correspondientes (lineal/lineal), se puede obtener una curva estándar que permite determinar la concentración de anticuerpos en las muestras desconocidas. Para el cálculo por ordenador de la curva estándar, se debería escoger el método de evaluación «punto a punto».	Tecnólogo Médico
A CARGO DEL PERSONAL PATÓLOGO CLÍNICO:		
A	Verificar los resultados emitidos por la lectora de Elisas, de los controles, calibradores y muestras.	Patólogo Clínico
B	Verificar resultados transcritos al Labcore.	Patólogo Clínico
C	Validar resultados transcritos al sistema Labcore.	Patólogo Clínico
D	Correlación clínica-patológica del paciente con resultados obtenidos si se requiere.	Patólogo Clínico

MINISTERIO DE SALUD SMIyBM V°B° MINISTERIO DE SALUD

ANEXO 05

FACTORES DE PRODUCCION DEL PROCEDIMIENTO POR ACTIVIDAD

Descripción de actividades	RR.HH	Insumos		Equipamiento	Infraestructura (ambiente)	Tiempo
		Fungible	No fungible			
A CARGO DEL PERSONAL TECNÓLOGO MÉDICO:						
PROCESAMIENTO:						
A. Previamente al procesamiento, verificar las condiciones de temperatura y humedad del ambiente (registro de temperatura y humedad).	Tecnólogo Médico	Lapicero y hoja de registro	---	Termohigrometro	Laboratorio de Inmunología	1 min
B. Retire el kit de materiales del Refrigerador (pocillos de reactivo recubiertos, calibradores, controles, conjugado enzimático, tampón de muestra, tampón de lavado, solución de cromógeno/sustrato y solución de parada), para ser llevados a temperatura ambiente (de +18 °C a +25 °C) por aproximadamente 30 minutos antes de ser usado.	Tecnólogo Médico	Placa de pocillos, picetas	Gradillas	---	Laboratorio de Inmunología	30 min
C. Se inicia el procedimiento con la apertura del envoltorio protector resellable de los Pocillos microplaca. Se recomienda no abrir el envoltorio protector hasta que el contenido haya alcanzado la temperatura ambiente, para evitar que los preparados se humedezcan y guardarlos inmediatamente en el envoltorio protector los pocillos de reactivo no utilizados de una microplaca empezada y cerrarlo herméticamente. Tener en cuenta que los	Tecnólogo Médico	Pocillos miccroplaca	---	---	Laboratorio de Inmunología	1 min

MINISTERIO DE SALUD SMI/BM V°B° MINISTERIO DE SALUD

<table>
<tr><td>pocillos de reactivo recubiertos de antígeno pueden conservarse hasta 4 meses si se almacenan en seco a entre +2 °C y +8 °C.</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>D. Utilizar suero humano, plasma con EDTA, heparina o citrato como muestra a analizar. Las muestras de los pacientes pueden conservarse hasta por 14 días a una temperatura de entre +2 °C y +8 °C. Tener en cuenta que las muestras diluidas se deben incubar el mismo día que se preparan.</td><td>Tecnólogo Médico</td><td>Tubo de muestra, plumón indeleble</td><td>---</td><td>---</td><td>Laboratorio de Inmunología</td><td>---</td></tr>
<tr><td>E. Diluir las muestras con tampón de muestra en la proporción 1:101 de la siguiente manera: añadir 10 µl de muestra a 1,0 ml de tampón de muestra y mezcle bien con un vórtex. No es conveniente mezclar con la pipeta de muestreo.</td><td>Tecnólogo Médico</td><td>Pocillos miccroplaca</td><td>Micropipeta</td><td>---</td><td>Laboratorio de Inmunología</td><td>5 min</td></tr>
<tr><td>F. Agregar a cada pocillo de reactivo 100 µl tanto de calibrador como de los controles positivo y negativo o muestras de pacientes diluidas, según el esquema de pipeteo. Incubar durante 30 minutos a temperatura ambiente (+18 °C a +25 °C).
Esquema de pipeteo
<table>
<tr><th></th><th>1</th><th>2</th><th>3</th><th>4</th><th>5</th><th>6</th><th>7</th><th>8</th><th>9</th><th>10</th><th>11</th><th>12</th></tr>
<tr><td>A</td><td>C 2</td><td>P 6</td><td>P 14</td><td>P 22</td><td></td><td></td><td>C 1</td><td>P 4</td><td>P 12</td><td>P 20</td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>B</td><td>pos.</td><td>P 7</td><td>P 15</td><td>P 23</td><td></td><td></td><td>C 2</td><td>P 5</td><td>P 13</td><td>P 21</td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>C</td><td>neg.</td><td>P 8</td><td>P 16</td><td>P 24</td><td></td><td></td><td>C 3</td><td>P 6</td><td>P 14</td><td>P 22</td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>D</td><td>P 1</td><td>P 9</td><td>P 17</td><td></td><td></td><td></td><td>pos.</td><td>P 7</td><td>P 15</td><td>P 23</td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>E</td><td>P 2</td><td>P 10</td><td>P 18</td><td></td><td></td><td></td><td>neg.</td><td>P 8</td><td>P 16</td><td>P 24</td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>F</td><td>P 3</td><td>P 11</td><td>P 19</td><td></td><td></td><td></td><td>P 1</td><td>P 9</td><td>P 17</td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>G</td><td>P 4</td><td>P 12</td><td>P 20</td><td></td><td></td><td></td><td>P 2</td><td>P 10</td><td>P 18</td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>H</td><td>P 5</td><td>P 13</td><td>P 21</td><td></td><td></td><td></td><td>P 3</td><td>P 11</td><td>P 19</td><td></td><td></td><td></td></tr>
</table></td><td>Tecnólogo Médico</td><td>Pocillos miccroplaca</td><td>Micropipeta</td><td>---</td><td>Laboratorio de Inmunología</td><td>10 min</td></tr>
</table>

MINISTERIO DE SALUD SMIyBM V°B° MINISTERIO DE SALUD

G. Luego, vaciar los pocillos de reactivo y a continuación lavarlos 3 veces utilizando cada vez 300 µl de tampón de lavado diluido listo para usar.	Tecnólogo Médico	Pocillos miccroplaca	Micropipeta multicanales	---	Laboratorio de Inmunología	10 min
H. Para la preparación del tampón de lavado, extraer el volumen requerido del frasco con una micropipeta limpia y dilúyalo en agua desionizada o destilada (1 parte de reactivo y 9 partes de agua), siendo para una tira de microplaca, 5 ml de concentrado y 45 ml de agua. El tampón de lavado se suministra en una concentración 10x. En caso de que aparezcan cristales de sal en el tampón concentrado, calentar el tampón a +37 °C y mezclarlo bien antes de diluirlo. Cabe mencionar que el tampón de lavado diluido listo para usar se conserva 4 semanas si se manipula correctamente y se almacena a entre +2 °C y +8 °C.	Tecnólogo Médico	Pocillos miccroplaca	Micropipeta multicanales	---	Laboratorio de Inmunología	30 min
I. Deberá dejar actuar el tampón de lavado en cada pocillo de reactivo entre 30 y 60 segundos por cada ciclo de lavado y, a continuación, aspirar o vaciar. Tras el proceso de lavado manual, sacudir enérgicamente la microplaca con las aberturas hacia abajo sobre papel absorbente para eliminar por completo los restos de tampón de lavado.	Tecnólogo Médico	Pocillos miccroplaca, papel toalla	Micropipeta multicanales	---	Laboratorio de Inmunología	30 min

MINISTERIO DE SALUD SMIyBM V°B° MINISTERIO DE SALUD

J. Tener en cuenta que los restos de líquido (>10 µl) que permanezcan en los pocillos de reactivo tras el proceso de lavado pueden influir en la conversión del sustrato y dar lugar a valores de extinción falsamente bajos. Un lavado insuficiente (menos de 3 ciclos de lavado, volumen insuficiente de tampón de lavado o tiempos de acción demasiado cortos) puede dar lugar a valores de extinción falsamente elevados. Las posiciones libres dentro de la tira de microplaca deben ocuparse con pocillos de reactivo vacíos con el mismo formato de placa que el del parámetro a analizar.	Tecnólogo Médico	Pocillos miccroplaca, papel toalla	Micropipeta multicanales	---	Laboratorio de Inmunología	---
K. Añadir 100 µl de conjugado enzimático (IgG antihumana marcada con peroxidasa), el cual debe mezclarse bien antes de su uso, en cada pocillo de reactivo. Luego, incubar durante 30 minutos a temperatura ambiente (entre +18 °C y +25 °C).	Tecnólogo Médico	Pocillos miccroplaca	Micropipeta		Laboratorio de Inmunología	30 min
L. Seguido, vaciar los pocillos. Y proceder a lavar según lo descrito anteriormente en el punto F y H.	Tecnólogo Médico	Pocillos miccroplaca	Micropipeta multicanales	---	Laboratorio de Inmunología	10 min
M. Añadir con la micropipeta 100 µl de la solución de cromógeno/sustrato en cada pocillo de reactivo. Incubar durante 15 minutos a temperatura ambiente (entre +18 °C y +25 °C), tener en cuenta cerrar el frasco de solución cromógeno/sustrato inmediatamente después de su uso, ya que la solución es sensible a la luz (proteger de la exposición directa a la luz solar). La solución debe ser transparente; no debe utilizarse si presenta una coloración azulada ya antes de su uso.	Tecnólogo Médico	Pocillos miccroplaca	Micropipeta	---	Laboratorio de Inmunología	15 min

MINISTERIO DE SALUD SMIyBM V°B° MINISTERIO DE SALUD

N. Añadir 100 µl de la solución de parada, el cual viene listo para su uso, en cada pocillo, en el mismo orden y a la misma velocidad con los que se agregó previamente la solución de cromógeno/sustrato.	Tecnólogo Médico	Pocillos miccroplaca	Micropipeta	---	Laboratorio de Inmunología	10 min
O. Tener en cuenta que para la medición fotométrica de la intensidad del color debe realizarse a una longitud de onda de medición de 450 nm y una longitud de onda de referencia de entre 620 nm y 650 nm, dentro de los 30 primeros minutos después de añadir la solución de parada. Antes de realizar la medición, agitar ligeramente la microplaca para asegurar la distribución homogénea de la solución colorante.	Tecnólogo Médico	Pocillos miccroplaca	---	---	Laboratorio de Inmunología	3 min
P. Finalmente, introducir la microplaca trabajada en la lectora de Elisas programando los 03 calibradores, 02 controles y el número de muestras a analizar, para realizar el cálculo de la curva de los calibradores. Una vez trazados los valores de extinción medidos para los 3 calibradores contra las concentraciones correspondientes (lineal/lineal), se puede obtener una curva estándar que permite determinar la concentración de anticuerpos en las muestras desconocidas. Para el cálculo por ordenador de la curva estándar, se debería escoger el método de evaluación «punto a punto».	Tecnólogo Médico	Pocillos miccroplaca	---	Lectora de Elisas	Laboratorio de Inmunología	5 min

MINISTERIO SMIyBM SALUD V°B°

A CARGO DEL PERSONAL PATOLOGO CLINICO:						
A. Verificar los resultados emitidos por la lectora de Elisas, de los controles, calibradores y muestras.	Patólogo clínico	---	---	Hoja de trabajo	Laboratorio de Inmunología	5 min
B. Verificar resultados transcritos al Labcore.	Patólogo clínico	---	---	Cuadernos de registro de resultados	Laboratorio de Inmunología	5 min
C. Validar resultados transcritos al sistema Labcore.	Patólogo clínico	---	---	Labcore	Laboratorio de Inmunología	30 seg
D. Correlación clínica-patológica del paciente con resultados obtenidos si se requiere.	Patólogo clínico	---	---	Historia clínica	Laboratorio de Inmunología	15 min

MINISTERIO DE SALUD SMIyBM V°B° MINISTERIO DE SALUD

ANEXO 06

FICHA EL INDICADOR

TASA DE SOLICITUD DE LA PRUEBA DE HERPES SIMPLE TIPO 2 IgG	
CONCEPTO / DEFINICION	Medición de la cantidad de Herpes Simple Tipo 2 IgG que se procesa en comparación del resto de pruebas del Servicio de Inmunología.
OBJETIVO	Determinar el porcentaje de Herpes Simple Tipo 2 IgG que se procesa del total de pruebas que procesa el Servicio de Inmunología.
FORMULA DE CALCULO	N° de pruebas de Herpes Simple Tipo 2 IgG procesadas en Inmunología mensual / N° total de pruebas procesadas en Inmunología mensual x 100
FUENTE DE DATOS	Estadística mensual del Servicio de Inmunología.
PERIODICIDAD	Mensual.
INTERPRETACION	Frecuencia de solicitud de la Herpes Simple Tipo 2 IgG del HNHU
ESTANDAR	≥ 10%

MINISTERIO DE SALUD SMIyBM

Dra. Astrid Rodriguez Agreda
PATOLOGO CLINICO
CMP: 58289 RNE: 39224
HOSPITAL NACIONAL HIPOLITO UNANUE