



PERÚ

Ministerio  
de Salud

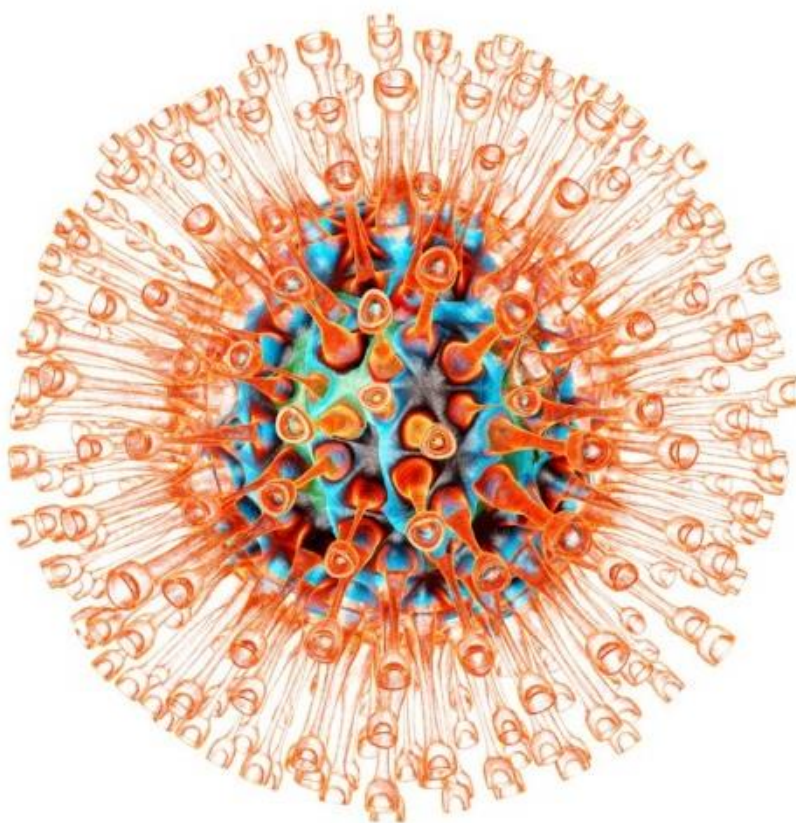
Instituto Nacional  
de Salud del Niño  
San Borja



GUÍA DE PROCEDIMIENTO PARA DETERMINACIÓN DE CARGA VIRAL  
DE HERPES VIRUS HUMANO 6 (HHV-6) POR PCR EN TIEMPO REAL

## Guía de Procedimiento para Determinación de Carga Viral de Herpes Virus Humano 6 (HHV-6) por PCR en Tiempo Real

Servicio de Patología Clínica  
Sub Unidad de Apoyo al Diagnóstico



Elaborado por:	Revisado por:	Aprobado por:
Equipo Técnico del Laboratorio de Histocompatibilidad y Biología Molecular del Servicio de Patología Clínica.	<ul style="list-style-type: none"><li>• Unidad de Soporte al Diagnóstico y Tratamiento</li><li>• Unidad de Gestión de la Calidad</li></ul>	Dr. Antonio Ricardo Zopfi Rubio Director (e) del Instituto Nacional de Salud del Niño - San Borja



Ministerio  
de Salud

Instituto Nacional  
de Salud del Niño  
San Borja



GUÍA DE PROCEDIMIENTO PARA DETERMINACIÓN DE CARGA VIRAL  
DE HERPES VIRUS HUMANO 6 (HHV-6) POR PCR EN TIEMPO REAL

**Guía de Procedimiento para Determinación de Carga Viral  
de Herpes Virus Humano 6 (HHV-6) por PCR en Tiempo Real**

I.	Titulo.....	3
II.	Finalidad.....	3
III.	Objetivos .....	3
IV.	Ámbito de Aplicación .....	3
V.	Nombre del proceso o Procedimiento y Código CPT .....	3
VI.	<b>Consideraciones Generales</b> .....	3
a.	Definiciones Operativas.....	3
1	Definición del procedimiento .....	3
2	Consentimiento informado.....	4
b.	Conceptos Básicos .....	4
c.	Requerimientos Básicos .....	4
VII.	Consideraciones Específicas .....	6
a.	Descripción detallada del Proceso o Procedimiento .....	6
b.	Indicaciones .....	13
1	Indicaciones Absolutas.....	13
2	Indicaciones Relativas .....	13
c.	Riesgos o Complicaciones Frecuentes .....	13
d.	Riesgos o Complicaciones poco Frecuentes .....	13
e.	Contraindicaciones .....	13
VIII.	Autores, Fecha y Lugar .....	13
IX.	Bibliografía.....	14



GUÍA DE PROCEDIMIENTO PARA DETERMINACIÓN DE CARGA VIRAL  
DE HERPES VIRUS HUMANO 6 (HHV-6) POR PCR EN TIEMPO REAL

**Guía de Procedimiento para Determinación de Carga Viral  
de Herpes Virus Humano 6 (HHV-6) por PCR en Tiempo Real**

**I. Título**

Procedimiento Operativo Estandarizado para Determinación de Carga Viral de Herpes Virus Humano 6 (HHV-6) por PCR en Tiempo Real.

**II. Finalidad**

Determinar los procedimientos técnicos para la correcta determinación de la carga viral de Herpes Virus Humano 6 (HHV-6) por PCR en tiempo real.

**III. Objetivos**

Realizar el procedimiento de Cuantificación de la Carga Viral de Herpes Virus Humano 6 (HHV-6), por PCR en tiempo Real (qPCR) a partir de muestras de sangre total, lavado bronco alveolar (LBA), líquido cefalorraquídeo (LCR), esputo y saliva.

**IV. Ámbito de Aplicación**

El presente procedimiento será aplicado por el laboratorio de Histocompatibilidad y Biología Molecular del Servicio de Patología Clínica del INSN - San Borja

**V. Nombre del proceso o Procedimiento y Código CPT**

Determinación de Carga Viral de Herpes Virus Humano 6 (HHV-6) por PCR en Tiempo Real.  
CPT: 8780009

**VI. Consideraciones Generales**

**a. Definiciones Operativas**

**1 Definición del procedimiento**

Esta prueba consiste en la amplificación en tiempo real in vitro para la detección cuantitativa del Virus Herpes humano 6 en los materiales biológicos. El ADN se extrae de muestras validadas, se amplifica usando sondas fluorescentes específicas para el gen pol del HHV-6 en el canal HEX y el control interno (CI) en el canal FAM

GUÍA DE PROCEDIMIENTO PARA DETERMINACIÓN DE CARGA VIRAL  
DE HERPES VIRUS HUMANO 6 (HHV-6) POR PCR EN TIEMPO REAL

(gen de la  $\beta$  globina humana) se utiliza como control de amplificación para cada muestra procesada individualmente e identificar la posible inhibición de la reacción. La cuantificación del ADN del HHV-6 y del IC se realiza por detección de fluorescencia en el canal HEX y FAM respectivamente para cada una de las muestras biológicas extrapolando dicho valor de fluorescencia en una curva de calibración estándar. Las unidades de reporte en muestra de sangre total es de copias de ADN de HHV-6 por  $10^6$  células y en muestras de saliva, LCR, LBA y esputo es la concentración de ADN de HHV6 en copias/ml.

**2 Consentimiento informado**

No requiere

**b. Conceptos Básicos**

- **La carga viral** es la cuantificación de las partículas virales en muestras clínicas humanas (Sangre total, plasma, suero, orina, LCR, etc), utilizando técnicas de Biología Molecular como la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), amplificaciones de señal mediante Sondas, etc.
- **El virus VHH-6** infecta preferentemente a los linfocitos T CD4+, la infección es seguida por persistencia y latencia en diferentes células y órganos, incluidos monocitos, macrófagos, glándulas salivales, cerebro y riñones. El VHH6 es causa de enfermedad durante la reactivación o reinfección, especialmente en los pacientes inmunosuprimidos o paciente seronegativos que pueden infectarse por los órganos provenientes de donantes seropositivos, en estos pacientes la infección por el VHH6 es frecuente y es causa de enfermedad. Los métodos de qPCR permiten monitorizar el desarrollo de la enfermedad y la respuesta a tratamiento.

**c. Requerimientos Básicos****Recursos Humanos**

- Médico Patólogo Clínico.
- Biólogo.
- Técnico de Laboratorio.

GUÍA DE PROCEDIMIENTO PARA DETERMINACIÓN DE CARGA VIRAL  
DE HERPES VIRUS HUMANO 6 (HHV-6) POR PCR EN TIEMPO REAL**Equipos Biomédicos**

- Termociclador en Tiempo Real
- Cabina de Bioseguridad Clase II-A2
- Ultracentrifuga refrigerada
- Termobloque de calor seco
- Vórtex
- Micropipetas 1-10 µl
- Micropipeta de 2 – 20 µl
- Micropipetas 20 – 200 µl
- Micropipeta de 100 – 1000 µl
- Congeladora de - 70 °C
- Congeladora de - 20 °C
- Refrigeradora de 2 - 8 °C

**Material médico no Fungible**

- Tips con filtro de 1 – 10 µl
- Tips con filtro de 2 – 20 µl
- Tips con filtro de 20 – 200 µl
- Tips con filtro de 100 – 1000 µl
- Crioviales de 2.0 ml
- Gradillas para tubos de 2.0 ml
- Gradilla de tubos de 12 x 75 mm
- Criobox
- Contenedor de desechos biológicos de 1L
- Contenedor de desechos biológicos de 4L
- Placas de PCR
- Tapas de microtubos de 0.2 ml para PCR en Tiempo Real.

**Material médico Fungible**

- **Reactivos**
  - Kit de Extracción de ADN viral (IVD).
  - Kit de PCR en Tiempo Real para Detección y Cuantificación de Herpes Virus Humano 6 (IVD).
- **Materiales**
  - Papel absorbente.
  - Guantes de nitrilo
  - Gafas protectoras.
- **Soluciones**
  - Etanol Absoluto

GUÍA DE PROCEDIMIENTO PARA DETERMINACIÓN DE CARGA VIRAL  
DE HERPES VIRUS HUMANO 6 (HHV-6) POR PCR EN TIEMPO REAL**VII. Consideraciones Específicas****a. Descripción detallada del Proceso o Procedimiento**

Procedimientos

Tiempo: 380 minutos

**➤ Preparación de la Muestra (50 Minutos)****Al inicio del trabajo**

- 1 Toda muestra debe ser ingresada con letra legible, especificando el tipo de prueba a realizarse en el Registro General de Toma de Muestra del Servicio de Patología Clínica.
- 2 En caso de las muestras referidas, verificar la legibilidad de los nombres tanto del paciente como del médico solicitante al momento de recepcionar la muestra.
- 3 Es obligatorio utilizar bata, guantes y lentes de protección durante todo el tiempo de trabajo en el laboratorio.
- 4 Toda muestra debe ser considerada **potencialmente infecciosa** y se deben tomar las precauciones que garanticen la seguridad del flebotomista y de los pacientes.
- 5 Antes de iniciar cualquier procedimiento, limpiar con alcohol Etílico al 70% o Hipoclorito de sodio al 10 % las superficies de las mesas de trabajo.
- 6 Utilizar contenedores de descarte para objetos punzo cortantes y biocontaminados.

**Numeración**

- 1 Verificar la calidad de las muestras de sangre obtenidas, por ejemplo: hemólisis, lipemia, ictericia, etc (Describir en la orden de ser el caso).
- 2 Numerar en orden correlativo cada una de las muestras extraídas consignando los siguientes datos:
  - Tipo de Examen solicitado
  - Tipo de muestra
  - Fecha de la toma de muestra
  - Procedencia de la muestra: Sangre Periférica (Punción) o Catéter venoso central (CVC)
- 3 La numeración asignada debe estar indicada en la orden de laboratorio como en el tubo que contiene la muestra. Ejemplo:
  - HHV-6-SP/01-10-18
  - HHV-6-LBA/01-10-18
  - HHV-6-LCR/01-10-18
  - HHV-6-ESPUTO/01-10-18
  - HHV-6-SALIVA/01-10-18
- 4 Reposar las muestras extraídas en posición vertical por 20 minutos a temperatura ambiente.

**GUÍA DE PROCEDIMIENTO PARA DETERMINACIÓN DE CARGA VIRAL  
DE HERPES VIRUS HUMANO 6 (HHV-6) POR PCR EN TIEMPO REAL****Transporte y Almacenamiento**

- 1 Rotular en orden correlativo los tubos o crioviales necesarios que se enviarán al laboratorio según la cantidad de muestras, indicando los siguientes datos:

- Nombre del Paciente
- Numeración asignada según tipo de examen solicitado
- Fecha de toma de muestra.

Ejemplo:

Pablo Ruiz Fernández  
HHV-6-SP/01-10-18

- 2 Las muestras de líquido cefalorraquídeo o lavado broncoalveolar son tomados por el médico especialista y enviadas al laboratorio debidamente identificadas sin apertura del recipiente de colecta.
- 3 En caso de que el proceso no se realice el mismo día de toma de muestra, el almacenaje de las muestras procederá de acuerdo a parámetros de estabilidad de muestra, tal como se detalla en el siguiente cuadro:

VIRUS	Muestra	Almacenaje	Estabilidad de la Muestra
Herpes Virus Humano - 6 (HHV-6)	Sangre Total	Refrigeración (4 °C)	12 horas
	Lavado Broncoalveolar (LBA)	Refrigeración (4 °C)	48 horas
	Líquido Cefalorraquídeo (LCR)	Refrigeración (4 °C)	48 horas
	Saliva y/o Espudo	Refrigeración (4 °C)	48 horas

**Al Final del trabajo**

- 1 Limpiar la superficie de la mesa de trabajo utilizada.
- 2 Dejar los materiales utilizados en su lugar respectivo.
- 3 Eliminar los guantes y/o otros materiales descartables en los reservorios adecuados (bolsa roja).
- 4 Lavarse las manos con jabón desinfectante disponible.



GUÍA DE PROCEDIMIENTO PARA DETERMINACIÓN DE CARGA VIRAL  
DE HERPES VIRUS HUMANO 6 (HHV-6) POR PCR EN TIEMPO REAL

➤ **Extracción de ADN Viral (120 Minutos)**

**Preparación de los reactivos**

1. Sacar del congelador de -20 °C el Control Positivo y el Control Negativo y dejar atemperar a temperatura ambiente.
2. Sacar de refrigeración de 2-8 °C la solución de lisis y las soluciones de lavado y calentarlos hasta 60°C para la desaparición de los cristales de hielo.

**Proceso de Extracción**

1. Encender la Cabina de Bioseguridad asignada para la extracción de ácidos nucleicos. Ver PC-BM-I-004: INSTRUCTIVO DE MANEJO CABINA DE BIOSEGURIDAD CLASE II TIPO A2.
2. Rotular en orden ascendente el número de crioviales de 1.5 ml necesarios según la lista de trabajo del día.
3. Mezclar por vórtex vigorosamente las muestras y controles (Aproximadamente por 10 segundos).
4. Agregue a cada tubo de crioviales 300 µl de solución de lisis.
5. Agregue 100 µl de muestras al tubo apropiado.
6. Prepare los controles de la siguiente manera:
  - Agregue 100 µl de C- (control negativo) al criovial rotulado como C-.
  - Agregue 90 µl de C- (control negativo) y 10 µl de control Positivo de HHV6 y ADN humano al criovial rotulado como C+.
7. Mezclar por vórtex los tubos, incube durante 5 minutos a 65 ° C y centrifugue durante 5 segundos.
8. Mezclar por vórtex el Sorbent y añada 25 µl a cada tubo.
9. Mezcle por vórtex durante 5-7 segundos e incube todos los tubos durante 10 minutos a temperatura ambiente. Vórtex periódicamente.
10. Centrifugue todos los tubos durante 1 minuto a 5000 g y usando una micropipeta retire cuidadosamente y deseche el sobrenadante de cada tubo sin perturbar el sedimento. Cambie las puntas entre los tubos.
11. Agregue 300 µl de solución de lavado 1 a cada tubo. Mezcle vigorosamente en el vórtex y centrifugar durante 1 minuto a 5000g y utilizando una micropipeta retire y deseche con cuidado el sobrenadante de cada tubo sin perturbar el sedimento. Cambie las puntas entre los tubos.
12. Agregue 500 µl de solución de lavado 2 a cada tubo. Mezcle vigorosamente en el vórtex y centrifúguelo durante 1 minuto a 10000g y usando una



**GUÍA DE PROCEDIMIENTO PARA DETERMINACIÓN DE CARGA VIRAL  
DE HERPES VIRUS HUMANO 6 (HHV-6) POR PCR EN TIEMPO REAL**

micropipeta retire y descarte el sobrenadante de cada tubo sin perturbar el sedimento. Cambie las puntas entre los tubos.

13. Repita el paso 12.
14. Incube todos los tubos con la tapa abierta durante 5 minutos a 65 ° C.
15. Resuspender el sedimento en 50 µl de eluyente de ADN. Incubar durante 5 min a 65 °C y mezcle por vórtex periódicamente.
16. Centrifugue los tubos durante 2 minutos a velocidad máxima (12 000 - 16 000 g). El sobrenadante contiene el ADN listo para amplificación. La amplificación se puede realizar el mismo día de la extracción. Si no se amplifica el mismo día congelar a -20°C.

➤ **Amplificación por PCR en Tiempo Real (180 Minutos)**

**Al inicio del trabajo**

1. Es obligatorio utilizar bata, guantes y lentes de protección durante todo el tiempo de trabajo en el laboratorio.
2. Encender la Cabina de Bioseguridad asignada para la preparación y cargado de las reacciones de PCR. Ver PC-BM-I-004: INSTRUCTIVO DE MANEJO CABINA DE BIOSEGURIDAD CLASE II TIPO A2.
3. Retirar los reactivos para la preparación de la mezcla de PCR y los controles de Amplificación del congelador de -20 °C y dejar a temperatura ambiente.
4. Cortar las filas necesarias de la placa de PCR con sus respectivas tapas.

**Preparación de la mezcla de PCR**

1. Prepare la cantidad requerida de tubos (N= muestras + 3 estándares + 2 controles).
2. Preparar en un nuevo tubo estéril la master Mix:
  - 10 µl de PCR-mix x N
  - 5 µl de PCR-Buffer-FRT x N
  - 0.5 µl de TaqF Polymerase x N
3. Mezclar en un vortex y centrifugar durante 2-3 segundos.
4. Agregue 15 µl de la master Mix a cada pocillo de reacción.
5. Agregue 10 µl del estándar QS1 al primer pocillo.
6. Agregue 10 µl del estándar QS2 al segundo pocillo.
7. Agregue 10 µl del estándar QS2 al tercer pocillo.
8. Agregue 10 µl del control positivo al cuarto pocillo.

GUÍA DE PROCEDIMIENTO PARA DETERMINACIÓN DE CARGA VIRAL  
DE HERPES VIRUS HUMANO 6 (HHV-6) POR PCR EN TIEMPO REAL

9. Agregue 10 µl del control negativo al quinto pocillo.
10. Agregue 10 µl del DNA extraído a cada uno de los pocillos siguientes.
11. Volumen de reacción = 25 µl.
12. Mezclar por inversión sin formar burbujas.
13. Tape cada pocillo con las tapas especiales para reacciones en PCR en tiempo Real. No tocar las tapas con los dedos.
14. Coloque la placa cargada en el bloque térmico del Termociclador en tiempo Real y cierre la tapa del equipo.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	Estándar 01	Muestra 4										
B	Estándar 02	Muestra 5										
C	Estándar 02	Muestra 6										
D	Control +	Muestra 7										
E	Control -	Muestra 8										
F	Muestra 1	Muestra 9										
G	Muestra 2	Muestra 10										
H	Muestra 3	Muestra 11										

**Programación del equipo MX3500P System (Stratagene)**

1. Ingresar al software Mx y elegir Quantitative PCR en la ventana new Options Screen.



2. Ingresar los parámetros básicos de los estándares, NTC y de las muestras:
  - a. Definir las posiciones de los estándares en la placa de PCR en el Mx.
  - b. En el menú de la derecha, seleccione e indique:
    - i. Well type: Standard
    - ii. Collect fluorescence data: FAM, ROX
    - iii. Reference dye: ROX
    - iv. Replicate symbol: none.

GUÍA DE PROCEDIMIENTO PARA DETERMINACIÓN DE CARGA VIRAL  
DE HERPES VIRUS HUMANO 6 (HHV-6) POR PCR EN TIEMPO REAL

- c. Definir la posición del Control Positivo y el Control Negativo en la Placa de PCR en el Mx.
- d. En el menú de la derecha, selecciones e indique:
- Well type: NTC
  - Collect fluorescence data: FAM, ROX, HEX
  - Reference dye: ROX
  - Replicate symbol: none.
- e. Definir la posición de las muestras en la Placa de PCR en el Mx.
- f. En el menú de la derecha, selecciones e indique:
- Well type: Unknown
  - Collect fluorescence data: FAM, ROX, HEX
  - Reference dye: ROX
  - Replicate symbol: none.
- g. Haciendo doble click en cada pocillo, aparecerá el cuadro de diálogo de información del Pocillo. Introduzca según corresponda:
- Estándar 01
  - Estándar 02
  - Estándar 02
  - Control Positivo
  - Control Negativo
  - Nombre del Paciente
3. Configurar los parámetros de amplificación PCR con los siguientes datos:
- ✓ Segmento 01
    - Initial Denaturation (95°C por 15 min.) --> 01 Ciclo
  - ✓ Segmento 02
    - Denaturation (95°C por 5 s)
    - Annealing (60°C por 20 s)
    - reading of the fluorescence signal
    - Extensión (72°C por 15 s)

}

05  
ciclos
  - ✓ Segmento 03
    - Denaturation (95°C por 5 s)
    - Annealing (60°C por 30 s)
    - reading of the fluorescence signal
    - Extensión (72°C por 20 s)

}

40  
ciclos
4. Guardar la corrida en la carpeta correspondiente y hacer click en Start para iniciar la corrida.

GUÍA DE PROCEDIMIENTO PARA DETERMINACIÓN DE CARGA VIRAL  
DE HERPES VIRUS HUMANO 6 (HHV-6) POR PCR EN TIEMPO REAL

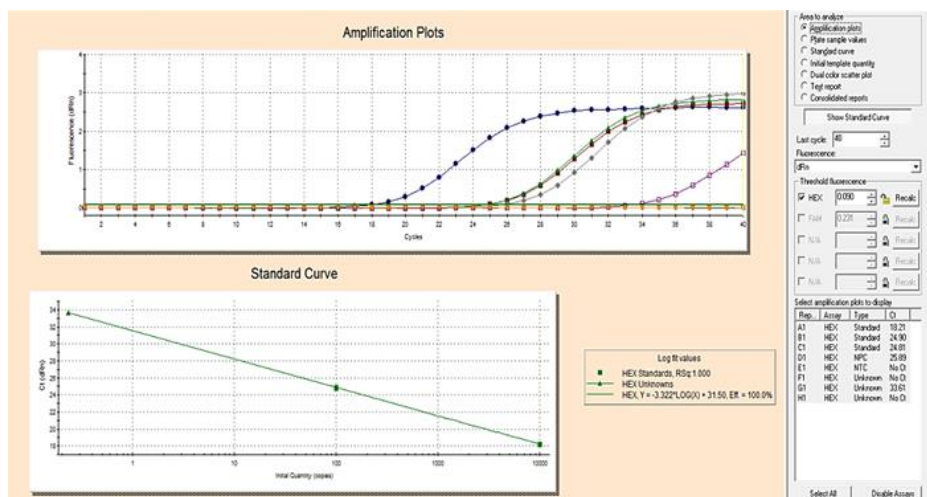
➤ **Análisis de datos y validación de parámetros de amplificación (30 minutos)**

1. Cuando el programa de amplificación haya culminado, hacer click en Analysis del menú de la izquierda.
2. Active la pestaña de visualización del canal **FAM** para verificar la amplificación de los Estándares y el control interno presente en todas las muestras.
3. Active la pestaña de visualización del canal **HEX** para verificar la amplificación de los Estándares y las muestras clínicas.
4. Hacer click en **Amplificación plot** y verifique los Ct de amplificación del Control Interno, Estándares y muestras clínicas.
5. Hacer click en **Show Standard Curve** y verifique los datos de RSq y % de eficiencia, los cuales deben estar cerca de 1 y 100 % respectivamente.
6. Para mostrar los resultados de cuantificación, hacer click en **Text report**.
7. Utilice la siguiente fórmula para calcular la concentración de una muestra de sangre total que es copia de ADN de HHV-6 en  $10^6$  células:

$$\text{Copias de HHV6 en } 10^6 \text{ células} = \frac{\text{Copias de DNA HHV6 /reacción}}{\text{Copias de DNA humano/reacción}} \times 2 \times 10^6$$

8. Para el cálculo en muestra de saliva, LCR, LBA y esputo es la concentración de ADN de HHV6 por ml de muestra

$$\text{Copias de ADN HHV6} = \text{Calculo de DNA HHV6} \times 100 \text{ (copias/ml)}$$





Ministerio  
de Salud

Instituto Nacional  
de Salud del Niño  
San Borja



## GUÍA DE PROCEDIMIENTO PARA DETERMINACIÓN DE CARGA VIRAL DE HERPES VIRUS HUMANO 6 (HHV-6) POR PCR EN TIEMPO REAL

### b. Indicaciones

#### 1 Indicaciones Absolutas

Cuantificación de ADN viral de HHV-6 en pacientes pediátricos remitidos por los diversos servicios del Instituto Nacional del Niño – San Borja (INSN-SB).

#### 2 Indicaciones Relativas

- Cuantificación de ADN viral de HHV-6 en pacientes pediátricos hospitalizados o por consulta de los diferentes servicios del INSN-SB.
- Las muestras validadas para la detección de ADN viral de HHV-6 por PCR a Tiempo Real son: Sangre total, Líquido Cefalorraquídeo (LCR), Lavado Broncoalveolar (LBA), esputo y saliva.

### c. Riesgos o Complicaciones Frecuentes

Ninguno

### d. Riesgos o Complicaciones poco Frecuentes

Ninguno

### e. Contraindicaciones

Ninguna

## VIII. Autores, Fecha y Lugar

Instituto Nacional de Salud del Niño - San Borja

Laboratorio de Histocompatibilidad y Biología Molecular-Servicio de Patología Clínica.

Sub Unidad de Apoyo al Diagnóstico y Tratamiento

Fecha de Elaboración: Marzo 2019

Vigencia: 02 años

Autores:

- |   |                         |
|---|-------------------------|
| 1. Blga. Giannina Wendy Tineo Pozo, MsC (C) | gtineo@insnsb.gob.pe    |
| 2. Blgo. Luis Eduardo Grados Molina         | lgrados@insnsb.gob.pe   |
| 3. Dra. Carla Méndez Chacón Rodríguez       | cmendez@insnsb.gob.pe   |
| 4. Dra. Andrea de María Zavaleta González   | azavaleta@insnsb.gob.pe |
| 5. Blga. Madeley Aliaga Zamudio, MsC(C)     | maliaga@insnsb.gob.pe   |
| 6. Blgo. Luis Martín Cruz Diaz, MsC (C)     | lcruz@insnsb.gob.pe     |



Ministerio  
de Salud

Instituto Nacional  
de Salud del Niño  
San Borja



GUÍA DE PROCEDIMIENTO PARA DETERMINACIÓN DE CARGA VIRAL  
DE HERPES VIRUS HUMANO 6 (HHV-6) POR PCR EN TIEMPO REAL

**IX. Bibliografía**

- Lena E. Winestone, Rajesh Punn, John S. Tamaresis, Julia Buckingham, Benjamin A. Pinsky, Jesse J. Waggoner, Sandhya Kharbanda. High human herpesvirus 6 viral load in pediatric allogeneic hematopoietic stem cell transplant patients is associated with detection in end organs and high mortality. *Pediatric Transplantation*. 2017; e13084.
- Louis Flamand, Irmeli Lautenschlager, Gerhard R.F. Krueger, Dharam V. Ablashi. Human Herpesviruses HHV-6A, HHV-6B, and HHV-7. *Diagnosis and Clinical Management*. Copyright © 2014 Elsevier BV.
- Abdel-Haq NM1, Asmar BI. Human herpesvirus 6 (HHV6) infection. *Indian J Pediatr*. 2004 Jan; 71(1):89-96.
- Narayanan S. The preanalytic phase. An important component of laboratory medicine. *Am J Clin Pathol*. 2000; 113:429 – 452.
- Longo, M.C., Berninger, M.S. and Hartley, J.L. Use of uracil DNA glycosylase to control carry-over contamination in polym National Committee for Clinical Laboratory Standards. 1990.
- Protection of laboratory workers from infectious disease transmitted by blood, body fluids and tissue. Tentative Guideline. NCCLS Document M29-T Villanova, PA: NCCLS, 1989. erase chain reactions. *Gene*. 93(1):125-128.
- Manual de instrucciones del kit HHV6 Real-TM Quant