

MINISTERIO DE SALUD  
INSTITUTO NACIONAL DE  
SALUD DEL NIÑO-SAN BORJA

Nº 039 /2016/INSN-SB/T

"Decenio de las Personas con Discapacidad en el Perú"  
"Año de la consolidación del Mar de Grau"



## RESOLUCION DIRECTORAL

Lima, 31 MAR. 2016

### VISTO:

El expediente N° 16-004316-001-INSN-SB; sobre la aprobación de Manuales del Laboratorio de Histocompatibilidad del Servicio de Patología Clínica; y,

### CONSIDERANDO:

Que, el Artículo 37° de la Ley N° 26842, Ley General de Salud, establece que los establecimiento de salud y los servicios médicos de apoyo, cualquiera sea su naturaleza o su modalidad de gestión, deben cumplir los requisitos que disponen los reglamentos y normas técnicas que dicta la Autoridad de Salud a nivel nacional en relación a planta física, equipamiento, personal asistencial, sistemas de saneamiento y control de riesgos relacionados con los agentes ambientales físicos, químicos, biológicos y ergonómicos y demás que proceden atendiendo a la naturaleza y complejidad de los mismos;

Que, el Segundo párrafo del Artículo 5° del Decreto Supremo N° 013-2006-SA, Reglamento de Establecimientos de Salud y Servicios Médicos de Apoyo, 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 inciso s) del Artículo 37° del Decreto Supremo N° 013-2006-SA, Reglamento de Establecimientos de Salud y Servicios Médicos de Apoyo, establece que al Director Médico le corresponde disponer la elaboración del Reglamento interno, de las guías de práctica clínica y de los manuales de procedimientos referidos a la atención de los pacientes, personal, suministros, mantenimiento, seguridad, y otros que sean necesarios;

Que, mediante el literal d) del acápite II.2.1 del Manual de Operaciones del Instituto Nacional de Salud del Niño – San Borja, aprobado por Resolución Ministerial N° 512-2014/MINSA del 07 de julio de 2014, se establece que es función de la Dirección General el "Proponer los documentos de gestión institucional del INSN-SB y aprobarlos en los casos que corresponda, según la normatividad vigente";



Que, mediante Nota Informativa N° 052-PC/INSN-SB, de fecha 08 de marzo del 2016, la Responsable del Servicio de Patología Clínica, remite a la Directora Ejecutiva de la Unidad de Soporte al Diagnóstico y Tratamiento los manuales elaborados por el Equipo Técnico del Laboratorio de Histocompatibilidad y Biología Molecular del Servicio de Patología Clínica para visto bueno de su Unidad y de la Unidad de Gestión de la Calidad, a fin de su posterior aprobación mediante acto resolutivo;

Que, mediante Nota Informativa N° 00148-2016-UGC-INSN-SB, la Jefa de Oficina de la Unidad de Gestión de la Calidad, solicita la aprobación, mediante Resolución Directoral, de los Manuales del Laboratorio de Histocompatibilidad y Biología Molecular del Servicio de Patología Clínica; los mismos que cuentan también con opinión favorable de la Unidad de Soporte al Diagnóstico y Tratamiento;

Con el visto bueno del Director Adjunto, de la Directora Ejecutiva de la Unidad de Soporte al Diagnóstico y Tratamiento, de la Jefa de Oficina de la Unidad de Gestión de la Calidad; y, del Jefe de Oficina de la Unidad de Asesoría Jurídica;

Por los fundamentos expuestos y de conformidad con la Ley N° 26842, Ley General de Salud, con el Decreto Supremo N° 013-2006-SA, Reglamento de Establecimientos de Salud y Servicios Médicos de Apoyo, con la Resolución Ministerial N° 512-2014/MINSA, con la Resolución Ministerial N° 090-2013/MINSA; y, con la Resolución Jefatural N° 340-2015/IGSS;

**SE RESUELVE:**

**Artículo 1°.- Aprobar** los Manuales del Laboratorio de Histocompatibilidad del Servicio de Patología Clínica, que a continuación se detallan:

- a. Manual de Procedimientos Estudio de Anticuerpos Anti HLA Clase I y Clase II por Citometría de Flujo (Luminometría) (M007-HBM/INSN-SB/PC-V.01)-(30 folios).
- b. Manual de Mantenimiento y Calibración de Equipos (M008-HBM/INSN-SB/PC-V.02)-(31 folios)

**ARTÍCULO 2°.- Encargar** a la Unidad de Soporte al Diagnóstico y Tratamiento la difusión e implementación de los documentos aprobados en la presente resolución.

**ARTÍCULO 3°.- Encargar** a la Unidad de Gestión de la Calidad, la evaluación del cumplimiento de los documentos que son materia de la presente resolución.

**ARTÍCULO 4°.- Disponer** la publicación en la página Web de la Institución, conforme a las normas de Transparencia y Acceso a la Información Pública.



EZTG/JCRG/kfs  
 Distribución  
 Titular  
 Unidad de Gestión de la Calidad  
 Unidad de Asesoría Jurídica  
 Archivo  
 Comunicaciones

**REGÍSTRESE, COMUNÍQUESE Y PUBLÍQUESE**

INSN Instituto Nacional de Salud del Niño  
 San Borja  
  
 Dra. Zulema Tomás Gonzáles  
 DIRECTORA GENERAL





**MANUAL DE PROCEDIMIENTOS  
ESTUDIO DE ANTICUERPOS ANTI HLA CLASE I Y CLASE II POR  
CITOMETRÍA DE FLUJO  
(LUMINOMETRIA)**

**SERVICIO DE PATOLOGÍA CLÍNICA**

**SUB UNIDAD DE SOPORTE AL DIAGNÓSTICO  
UNIDAD DE SOPORTE AL DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO**

**Febrero 2016**

<p>Elaborado por:</p> <p>Equipo Técnico del Laboratorio de Histocompatibilidad y Biología Molecular del Servicio de Patología Clínica.</p>	<p>Revisado por:</p> <p>Unidad de Soporte al Diagnóstico y Tratamiento. Unidad de Gestión de la Calidad</p>	<p>Aprobado por:</p> <p>Dra. Elizabeth Zulema Tomas Gonzales Directora General del INSN-SB</p>
--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----------------------------------------------------------------------------------------------------





PERÚ

Ministerio de Salud

Instituto de Gestión de Servicios de Salud

Instituto Nacional de Salud del Niño – San Borja

"Año de la Consolidación del Mar de Grau"



Manual de Procedimiento: Estudio de Anticuerpos Anti HLA Clase I y Clase II por Citometría de Flujo (Luminometría)

**MANUAL DE PROCEDIMIENTOS**  
**ESTUDIO DE ANTICUERPOS ANTI HLA CLASE I Y CLASE II POR**  
**CITOMETRÍA DE FLUJO**  
**(LUMINOMETRIA)**

**Contenido**

I NOMBRE ..... 3

II PROPOSITO..... 3

III ALCANCE ..... 3

IV MARCO LEGAL ..... 3

V NORMAS ..... 4

VI RECURSOS MATERIALES A UTILIZAR ..... 4

VII DESCRIPCIÓN DEL PROCEDIMIENTO ..... 7

VIII DEFINICION ..... 22

IX AUTORES. FECHA Y LUGAR ..... 23

X REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS ..... 23

XI ANEXOS ..... 24





PERÚ

Ministerio de Salud

Instituto de Gestión de Servicios de Salud

Instituto Nacional de Salud del Niño – San Borja

"Año de la Consolidación del Mar de Grau"



Manual de Procedimiento: Estudio de Anticuerpos Anti HLA Clase I y Clase II por Citometría de Flujo (Luminometría)

## I. NOMBRE

Estudio de Anticuerpos Anti HLA Clase I y Clase II por Citometría de Flujo (Luminometría).

## II. PROPOSITO

Establecer los procedimientos para la detección e identificación de especificidades de anticuerpos Anti HLA Clase I y Clase II por la metodología de Citometría de Flujo, en el Laboratorio de Histocompatibilidad y Biología Molecular del Servicio de Patología Clínica del INSN San Borja.

## III. ALCANCE

Para personal responsable de los procedimientos de detección e identificación de especificidades de anticuerpos Anti HLA Clase I y Clase II por la metodología de Citometría de Flujo, en el Laboratorio de Histocompatibilidad y Biología Molecular del Servicio de Patología Clínica del INSN San Borja.

## IV. MARCO LEGAL

- Ley N° 26842, Ley General de Salud,
- Ley N° 28189, Ley General de Donación y Trasplante de órganos y/o Tejidos Humanos.
- Ley N° 29471, Ley que promueve la Obtención, la donación y Trasplante de Órganos o Tejidos Humanos.
- Ley N° 29414, Ley que establece los Derechos de las Personas Usuarias de los Servicios de Salud,
- Ley N° 29344, Ley Marco de Aseguramiento Universal en Salud.
- Decreto Supremo N° 009-2012-SA, que declara de interés nacional la Atención Integral del Cáncer y Mejoramiento del acceso a los Servicios Oncológicos en el Perú, denominado "Plan Esperanza".

Fecha: Febrero 2016

Código: M007-HBM/INSN-SB/PC-V.01

Página 3 de 30





## V. NORMAS

- R.M. N° 520-2014/MINSA: Norma Técnica de Salud N° 107-MINSA/ONDT-V.01: "Norma Técnica de Salud que regula el Trasplante de Células Progenitoras Hematopoyéticas".
- R.M. N° 999-2007/MINSA: Norma Técnica de Salud N° 061-MINSA/DGSP-V.01: "Norma Técnica de Salud para la acreditación de Establecimientos Donadores-Trasplantadores".
- R.M. N° 302-2015/ MINSA: Norma Técnica de Salud N° 117-MINSA/DGSP-V.01: "Norma Técnica de Salud para la Elaboración y Uso de Guías de Práctica Clínica del Ministerio de Salud".
- R.M. N° 526-2011/MINSA: Normas para la Elaboración de Documentos Normativos del Ministerio de la Salud.

## VI. RECURSOS MATERIALES A UTILIZAR

Para la realización del Procedimiento de detección e identificación de especificidades de anticuerpos Anti HLA Clase I y Clase II por la metodología de Citometría de Flujo se deberán cumplir con los siguientes requisitos:

### VI.1 Recursos Humanos:

- Médico patólogo Clínico capacitado y entrenado en técnicas de Histocompatibilidad, Biología molecular, Inmunología y estudio de Anticuerpos Anti-HLA.
- Profesional Biólogo capacitado en técnicas de Histocompatibilidad, Biología Molecular, Inmunología y estudios de Anticuerpos Anti-HLA.
- Técnico de Laboratorio capacitado en procedimientos de Histocompatibilidad.

### VI.2 Paciente:

- El paciente o Tutor (según sea el caso) deberá manifestar su consentimiento para la realización de la Prueba con el posterior almacenamiento de su muestra





Manual de Procedimiento: Estudio de Anticuerpos Anti HLA Clase I y Clase II por Citometría de Flujo (Luminometría)

mediante la firma del Consentimiento Informado del Laboratorio. *Ver anexo N°01: Consentimiento Informado*

- El paciente y/o Tutor (según sea el caso) deberá pasar una entrevista a cargo del Médico responsable del llenado de la Ficha Epidemiológica del laboratorio. *Ver anexo N°02: Ficha Epidemiológica del Receptor y Anexo N°03: Ficha Epidemiológica del Donante.*

- El paciente y los donantes deben de cumplir con las indicaciones dadas en la presente Guía para la realización de la prueba.

- Solicitud escrita de cada uno de los potenciales donantes: Nombre del paciente receptor, edad, servicio que envía la orden, médico tratante del receptor, fecha.

**VI.3 Muestra biológica:**

- Muestra de sangre periférica debidamente identificada con nombre y fecha de la toma de muestra.

- Sangre periférica en tubo seco de 5 ml (02 tubos)

**VI.4 Equipos Biomédico**

- Analizador de flujo LABScan™ 100.
- Centrifuga para microtubos de 1,5 – 2.0 ml
- Centrifuga de pie para tubos de 12x75
- Rotador de placas
- Refrigerador 2 – 8 °C
- Congelador de – 30°C
- Congelador de – 70°C
- Homogenizador de tubos tipo Vortex
- Micropipeta automáticas de 1 – 10 ul
- Micropipeta automáticas de 2 – 20 ul
- Micropipeta automáticas de 10 – 100 ul
- Micropipeta automática de 100– 1000 ul
- Pipeta multicanal de 0.5 – 10 ul
- Pipeta multicanal de 20 – 300 ul

Fecha: Febrero 2016	Código: M007-HBM/INSN-SB/PC-V.01	Página 5 de 30
---------------------	----------------------------------	----------------





## Manual de Procedimiento: Estudio de Anticuerpos Anti HLA Clase I y Clase II por Citometría de Flujo (Luminometría)

- Computadora
- Impresora

### VI.5 Materiales

- Tips con filtro de 1 – 10 ul
- Tips con filtro de 2 – 20 ul
- Tips con filtro de 10 – 100 ul
- Tips con filtro de 100– 1000 ul
- Microtubos estériles de 1.5 – 2.0 ml
- Gradillas para microtubos de 1.5 – 2.0 ml
- Microtubo estéril de 0.5 ml
- Tubos cónicos estériles de 15 ml
- Films sellador para microplaca de 96 pocillos
- Microplaca de 96 pocillos,
- Cubeta de carga para pipeta multicanal.
- Plumón marcador indeleble, resistente al agua
- Papel absorbente
- Cronómetro

### VI.6 Insumos

- Suero de Control Negativo
- Anti-IgG humana de cabra conjugada con PE
- PBS
- Agua ultrapura grado molecular
- Lejía al 10% (o equivalente)

### VI.7 Reactivos

- Kit de Detección de Anticuerpos Anti HLA Clase I (LABScreen PRA Class I)
- Kit de Detección de Anticuerpos Anti HLA Clase II (LABScreen PRA Class II)
- Kit de Detección de Anticuerpos Anti HLA frente a antígenos HLA aislados clase I. (LABScreen Single Antigen HLA Class I)
- Kit de Detección de Anticuerpos Anti HLA frente a antígenos HLA aislados clase II. (LABScreen Single Antigen HLA Class II)

Fecha: Febrero 2016	Código: M007-HBM/INSN-SB/PC-V.01	Página 6 de 30
---------------------	----------------------------------	----------------





## VII. DESCRIPCIÓN DEL PROCEDIMIENTO

El estudio de Anticuerpos Anti-HLA Clase I y Clase II descrito en el presente manual consta de las siguientes fases:

VII.1 Detección de Anticuerpos Anti-HLA Clase I y Clase II

VII.2 Identificación de especificidades de anticuerpos Anti HLA Clase I y Clase II.

### VII.1 DETECCIÓN DE ANTICUERPOS ANTI-HLA CLASE I Y CLASE II

La detección de anticuerpos Anti-HLA Clase I y Clase II presentes en el suero del paciente "Receptor" con LABScreen PRA Class I y Clase II se realiza incubando una mezcla de microesferas o "beads" revestidas de antígenos HLA purificados con el suero del paciente. Los complejos Antígenos – Anticuerpos son marcados con anti-IgG humana de cabra conjugada con ficoeritrina (PE). Las señales resultantes son analizadas en un Analizador de flujo LABScan™ 100 mediante el software HLA Fusion.

#### Al inicio del trabajo:

1. Es obligatorio utilizar bata, guantes y lentes de protección durante todo el tiempo de trabajo.
2. Antes de iniciar cualquier procedimiento limpiar con alcohol Etilico al 70% o Hipoclorito de sodio al 10 %, las superficies de las mesas de trabajo para mantener un ambiente estéril.
3. No mezclar reactivos de diferente lote ni fuera de la fecha de expiración.

#### Durante el Proceso:

N° Paso	Descripción de Acciones	Responsable
1	<p><b>Al iniciar un kit:</b></p> <p>Tener en cuenta lo siguiente:</p> <p>Una vez que se descongelan las microesferas, NO VOLVER A CONGELARLAS. Almacenarlas de 2–8 °C hasta tres</p>	Biólogo





Manual de Procedimiento: Estudio de Anticuerpos Anti HLA Clase I y Clase II por Citometría de Flujo (Luminometría)

	<p>meses o hasta su fecha de caducidad (si es anterior).</p> <p>Después del primer uso, almacene el tampón de lavado de 2–8 °C hasta tres meses o hasta su fecha de caducidad, si es anterior.</p> <p>Si las sales del tampón se han precipitado en la solución durante el envío o el almacenamiento, vuelva a disolverlas calentándola ligeramente antes de preparar la dilución de trabajo.</p>	
<b>Formación de Complejos Ag-Ab</b>		
2	Mezcle bien las bolas LABScreen agitando suavemente en vórtex o pipeteando hacia arriba y abajo varias veces antes del uso.	Biólogo
3	Incube en la oscuridad 5 µl de bolas LABScreen con 20 µl del suero en estudio en cada pocillo de una placa 96 pocillos durante 30 minutos a 20 – 25 °C con agitación suave.	Biólogo
<b>Lavados</b>		
4	Diluya el tampón de lavado 10X en agua destilada para obtener una solución de lavado 1X.	Biólogo
5	Añada 150 µl de tampón de lavado 1X a cada pocillo de la placa. Cubra con el fims para cerrar la bandeja y agite en un vórtex.	Biólogo
6	Centrifugue a 1.300 g durante 5 minutos.	Biólogo
7	Retire el tampón de lavado de los pocillos de la placa agitando las bandejas.	Biólogo
8	Añada 200 µl de tampón de lavado 1X a cada pocillo de la placa. Cubra con el fims para cerrar la bandeja y agite en un vórtex.	Biólogo
9	Centrifugue a 1.300 g durante 5 minutos.	Biólogo
10	Retire el tampón de lavado de los pocillos de la placa	Biólogo





Manual de Procedimiento: Estudio de Anticuerpos Anti HLA Clase I y Clase II por Citometría de Flujo (Luminometría)

	agitando las bandejas.	
11	Añada 200 µl de tampón de lavado 1X a cada pocillo de la placa. Cubra con el films para cerrar la bandeja y agite en un vórtex.	Biólogo
12	Centrifugue a 1.300 g durante 5 minutos.	Biólogo
13	Retire el tampón de lavado de los pocillos de la placa agitando las bandejas.	Biólogo
<b>Revelado</b>		
14	Diluya 1 µl por prueba de anti-IgG humana conjugada con PE 100X con 99 µl de tampón de lavado 1X para preparar una solución 1X.	Biólogo
15	Añada 100 µl de anti-IgG humana conjugada con PE 1X a cada pocillo. Cubra con cierre para bandeja y agite en un vórtex.	Biólogo
16	Incube en la oscuridad durante 30 minutos a 20–25 °C con agitación suave.	Biólogo
17	Centrifugue a 1.300 g durante 5 minutos.	Biólogo
18	Retire el tampón de lavado de los pocillos de la placa agitando las bandejas.	
19	Añada 200 µl de tampón de lavado 1X a cada pocillo de la placa. Cubra con el films para cerrar la bandeja y agite en un vórtex.	Biólogo
40	Centrifugue a 1.300 g durante 5 minutos.	Biólogo
21	Retire el tampón de lavado de los pocillos de la placa agitando las bandejas.	Biólogo
22	Añada 80 µl de tampón PBS 1X a cada pocillo. Cubra la bandeja con un cierre nuevo y agite en un vórtex.	Biólogo
23	Proceda a la adquisición y el análisis de los datos o almacene la bandeja a 2–8 °C en la oscuridad hasta 24 horas antes del análisis.	Biólogo





<b>Calibración, lavados y Programación para adquisición de datos del Analizador de flujo utilizando el "Luminex IS 100 Software"</b>		
24	<b>Calibración</b> El proceso de calibración debe realizarse periódicamente cada vez que se requiera o cuando la temperatura de trabajo sea superior a la temperatura de calibración.	Biólogo
25	Atemperar los viales de calibradores (Vial CAL-1 de tapón rojo y CAL-2 de tapón verde), así como los viales de Controles (Vial CON-1 de tapón rojo y CON-2 de tapón verde) durante 10 – 15 minutos.	Biólogo
26	Vortear cada uno de los viales y cargar de 5 gotas de cada uno en los pocillos correspondientes en la placa a utilizar.	Biólogo
27	En el programa LUMINEX 100 IS: - En la opción <i>Instrument Calibration</i> : Hacer CLICK en los recuadros asignados para CAL-1, CAL-2, CON-1 y CON-2 para asignarles su posición en la placa cargada con los respectivos reactivos. - Pinchar en EJECT/RETRACT para colocar la placa cargada y nuevamente para cerrarla.	Biólogo
<b>Lavados</b>		
28	<b>Hacer CLICK en DAILY STARTUP:</b> <b>Ejecutar 2 veces Prime:</b> El sistema elimina las posibles burbujas del sistema.	Biólogo
29	<b>Ejecutar Alcohol flush:</b> Expulsar la placa de la plataforma (icono EJECT/RETRACT) y llenar el reservorio con alcohol al 70%. Ejecutar el icono de EJECT/RETRACT para guardar la plataforma y dar en OK para iniciar el proceso. El <i>alcohol flush</i> dura aprox. 5 minutos.	Biólogo
30	<b>Ejecutar Wash:</b> Expulsar la placa de la plataforma (icono	Biólogo





## Manual de Procedimiento: Estudio de Anticuerpos Anti HLA Clase I y Clase II por Citometría de Flujo (Luminometría)

	<b>EJECT/RETRACT</b> ) y llenar el reservorio con líquido del sistema. Luego volver a ejecutar el icono de <b>EJECT/RETRACT</b> para guardar la plataforma y dar en <b>OK</b> para iniciar el proceso. Repetir el proceso de lavado 2 veces más sin cambiar el líquido del sistema del reservorio.	
<b>Programación de Adquisición de datos</b> Desde el programa Luminex IS 100 software:		
31	Seleccione una plantilla de acuerdo con el ID del catálogo y el número de lote del kit del producto (LABScreen PRA Class I y LABScreen PRA Class II). Descargar la plantilla de la Página web.	Biólogo
	Cree un nombre de archivo para las muestras que se analizarán.	Biólogo
32	Asegúrese de que la configuración de la plantilla sea correcta. Las especificaciones de la plantilla son: - Establezca el volumen de la muestra hasta 50 µl. - Establezca el tiempo de espera para la muestra en 80 segundos. - Establezca la separación del discriminador de doblete en 8.000 (límite inferior) y 16.000 (límite superior) - Establezca el número e ID de las bolas seleccionadas de acuerdo con la hoja de trabajo específica proporcionada con el producto. - Establezca los sucesos mínimos recopilados en 100 por microesfera.	Biólogo
33	Ingrese los ID de las muestras (si se analiza la misma muestra más de una vez, deberá asignarse un ID diferente.)	Biólogo
34	Cargue la placa en la plataforma XY	Biólogo
35	Pulse el botón <b>START</b> para iniciar la sesión. Después de finalizar el análisis de las muestras, guarde los datos obtenidos en un archivo de tipo .csv.	Biólogo
Fecha: Febrero 2016		Código: M007-HBM/INSN-SB/PC-V.01
		Página 11 de 30





## Manual de Procedimiento: Estudio de Anticuerpos Anti HLA Clase I y Clase II por Citometría de Flujo (Luminometría)

36	Proceda con el lavado del equipo.	Biólogo
<b>Lavados del equipo</b>		
37	<b>Hacer CLICK en DAILY SHUTDOWN</b> Ejecutar <b>Sanitize</b> : Expulsar la placa de la plataforma (icono EJECT/RETRACT) y llenar el reservorio con lejía al 10%. Luego volver a ejecutar el icono de EJECT/RETRACT para guardar la plataforma y dar en OK para iniciar el proceso.	Biólogo
38	Ejecutar <b>Wash</b> : Expulsar la placa de la plataforma (icono EJECT/RETRACT) y llenar el reservorio con líquido del sistema. Luego volver a ejecutar el icono de EJECT/RETRACT para guardar la plataforma y dar en OK para iniciar el proceso. Repetir el lavado 3 veces.	Biólogo
39	Ejecutar <b>Soak</b> : Expulsar la placa de la plataforma (icono EJECT/RETRACT) y llenar el reservorio con agua destilada. Ejecutar el icono EJECT/RETRACT para guardar la plataforma y dar en OK para iniciar el proceso.	Biólogo
40	Apagar el sistema en el siguiente orden: Ordenador, citómetro y plataforma	Biólogo
41	Desajustar los tapones de los bidones de fluido y eliminar el contenido del bidón de desechos.	Biólogo
<b>Análisis de datos</b>		
42	Abrir el programa <i>HLA Fusión 3.3</i> y dar CLICK en <i>LabScreen</i> del menú <i>Analyze Data</i> o de la barra de herramientas de HLA Fusion.	Biólogo
43	Seleccione un archivo de la lista de archivos CSV a importar o haga clic en el icono de carpeta arriba de la lista para explorar en busca de archivos CSV LABScreen en el sistema/red.	Biólogo
44	Antes de importar una sesión nueva, seleccione (señale) la	Biólogo





## Manual de Procedimiento: Estudio de Anticuerpos Anti HLA Clase I y Clase II por Citometría de Flujo (Luminometría)

	muestra de control negativo desde la tabla de detalles de la muestra, y haga clic en <i>Check Controls</i> .	
45	Si es necesario, haga clic en la flecha desplegable del campo Default NS para seleccionar un valor predeterminado diferente.	Biólogo
46	Haga clic en Close para regresar a la pantalla anterior de importación de datos.	Biólogo
47	En el <i>árbol Navigator</i> , haga clic en un nombre de sesión. Aparece el resumen de la sesión.	Biólogo
48	Haga doble clic en una muestra de la tabla de resumen para ir directamente a la pantalla de análisis para dicha muestra.	Biólogo
49	Haga clic en cualquier encabezado de columna de la tabla de resumen para organizar la tabla de acuerdo con dicha columna. Las flechas en el encabezado de columna indican el orden de organización hacia arriba para el orden ascendente y hacia abajo para el orden descendente.	Biólogo
50	Evaluar el control positivo, debe tener un MFI mayor de 1000.	Biólogo
51	Evaluar el control Negativo, debe tener un MFI muy inferior y la relación de MFI del Control positivo/control negativo de ser mayor a 2.	Biólogo
52	Evaluar las reacciones de X8, X6, X4, X2 y X1.	Biólogo
53	Evaluar los valores de MFI de las muestras para esta consideración según el <i>Cutt Off</i> determinado por el laboratorio.	Biólogo
54	Excluir los antígenos pertenecientes a la tipificación del paciente. Guardar los cambios.	Biólogo
55	Haga clic en el botón Export para guardar la tabla de resumen en su ordenador o en la red (la ubicación predeterminada es C:\OLI FUSION\data\report). El archivo se guarda en formato Excel (*.XLS).	Biólogo





REPORTE Y EMISIÓN DE RESULTADOS		
56	Elaboración del Reporte de Resultados según Modelo del Laboratorio. <i>Ver Anexo N°04: Reporte de Resultados.</i>	Médico Patólogo Clínico
57	Validación de resultados y correlación clínico-patológica	Médico Patólogo Clínico

**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 biocontaminados en los reservorios adecuados (tacho con bolsa roja).
4. Lavarse las manos con jabón desinfectante disponible.

**VII.2 IDENTIFICACIÓN DE ESPECIFICIDADES DE ANTICUERPOS ANTI HLA CLASE I Y CLASE II.**

La identificación de especificidades de los anticuerpos Anti-HLA Clase I y Clase II presentes en el suero del paciente "Receptor" se realiza siempre que la prueba con LABScreen PRA Class I and Class II sea positiva, lo cual indica la presencia de anticuerpos preformados para los antígenos HLA en el receptor.

Este ensayo se basa en que cada una de las microesferas del kit LABScreen Single Antigen HLA Class I y clase II está revestida por un único Antígeno HLA "Single Antigen" lo cual permite determinar de manera precisa el perfil de especificidades de los Anticuerpos Anti HLA.

Al igual que en el caso de la prueba LABScreen PRA Class I and Class II se incuban una mezcla de microesferas o "beads" revestidas de antígenos HLA purificados con el suero del paciente. Los complejos Antígenos – Anticuerpos son marcados con anti-IgG humana de cabra conjugada con ficoeritrina (PE). Las señales resultantes son analizadas en un Analizador de flujo LABScan™ 100 mediante el software HLA Fusion.

Fecha: Febrero 2016	Código: M007-HBM/INSN-SB/PC-V.01	Página 14 de 30
---------------------	----------------------------------	-----------------





Manual de Procedimiento: Estudio de Anticuerpos Anti HLA Clase I y Clase II por Citometría de Flujo (Luminometría)

**Al inicio del trabajo:**

1. Es obligatorio utilizar bata, guantes y lentes de protección durante todo el tiempo de trabajo.
2. Antes de iniciar cualquier procedimiento limpiar con alcohol Etilico al 70% o Hipoclorito de sodio al 10 %, las superficies de las mesas de trabajo para mantener un ambiente estéril.
3. No mezclar reactivos de diferente lote ni fuera de la fecha de expiración.

**Durante el Proceso:**

N° Paso	Descripción de Acciones	Responsable
1	<p><b>Al iniciar un kit:</b></p> <p>Tener en cuenta lo siguiente:</p> <p>Una vez que se descongelan las microesferas, NO VOLVER A CONGELARLAS. Almacenarlas de 2–8 °C hasta tres meses o hasta su fecha de caducidad (si es anterior).</p> <p>Después del primer uso, almacene el tampón de lavado de 2–8 °C hasta tres meses o hasta su fecha de caducidad, si es anterior.</p> <p>Si las sales del tampón se han precipitado en la solución durante el envío o el almacenamiento, vuelva a disolverlas calentándola ligeramente antes de preparar la dilución de trabajo.</p>	Biólogo
<b>Formación de Complejos Ag-Ab</b>		
2	Mezcle bien las bolas LABScreen agitando suavemente en vórtex o pipeteando hacia arriba y abajo varias veces antes del uso.	Biólogo
3	Incuba en la oscuridad 5 µl de bolas LABScreen con 20 µl del suero en estudio en cada pocillo de unavplaca 96 pocillos durante 30 minutos a 20 – 25 °C con agitación suave.	Biólogo

Fecha: Febrero 2016

Código: M007-HBM/INSN-SB/PC-V.01

Página 15 de 30





Manual de Procedimiento: Estudio de Anticuerpos Anti HLA Clase I y Clase II por Citometría de Flujo (Luminometría)

<b>Lavados</b>		
4	Diluya el tampón de lavado 10X en agua destilada para obtener una solución de lavado 1X.	Biólogo
5	Añada 150 µl de tampón de lavado 1X a cada pocillo de la placa. Cubra con el fims para cerrar la bandeja y agite en un vórtex.	Biólogo
6	Centrifugue a 1.300 g durante 5 minutos.	Biólogo
7	Retire el tampón de lavado de los pocillos de la placa agitando las bandejas.	Biólogo
8	Añada 200 µl de tampón de lavado 1X a cada pocillo de la placa. Cubra con el fims para cerrar la bandeja y agite en un vórtex.	Biólogo
9	Centrifugue a 1.300 g durante 5 minutos.	Biólogo
10	Retire el tampón de lavado de los pocillos de la placa agitando las bandejas.	Biólogo
11	Añada 200 µl de tampón de lavado 1X a cada pocillo de la placa. Cubra con el fims para cerrar la bandeja y agite en un vórtex.	Biólogo
12	Centrifugue a 1.300 g durante 5 minutos.	Biólogo
13	Retire el tampón de lavado de los pocillos de la placa agitando las bandejas.	Biólogo
<b>Revelado</b>		
14	Diluya 1 µl por prueba de anti-IgG humana conjugada con PE 100X con 99 µl de tampón de lavado 1X para preparar una solución 1X.	Biólogo
15	Añada 100 µl de anti-IgG humana conjugada con PE 1X a cada pocillo. Cubra con cierre para bandeja y agite en un vórtex.	Biólogo
16	Incube en la oscuridad durante 30 minutos a 20–25 °C con agitación suave.	Biólogo





Manual de Procedimiento: Estudio de Anticuerpos Anti HLA Clase I y Clase II por Citometría de Flujo (Luminometría)

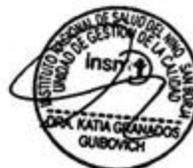
17	Centrifugue a 1.300 g durante 5 minutos.	Biólogo
18	Retire el tampón de lavado de los pocillos de la placa agitando las bandejas.	
19	Añada 200 µl de tampón de lavado 1X a cada pocillo de la placa. Cubra con el films para cerrar la bandeja y agite en un vórtex.	Biólogo
40	Centrifugue a 1.300 g durante 5 minutos.	Biólogo
21	Retire el tampón de lavado de los pocillos de la placa agitando las bandejas.	Biólogo
22	Añada 80 µl de tampón PBS 1X a cada pocillo. Cubra la bandeja con un cierre nuevo y agite en un vórtex.	Biólogo
23	Proceda a la adquisición y el análisis de los datos o almacene la bandeja a 2–8 °C en la oscuridad hasta 24 horas antes del análisis.	Biólogo
<b>Calibración, lavados y Programación para adquisición de datos del Analizador de flujo utilizando el "Luminex IS 100 Software"</b>		
24	<b>Calibración</b> El proceso de calibración debe realizarse periódicamente cada vez que se requiera o cuando la temperatura de trabajo sea superior a la temperatura de calibración.	Biólogo
25	Atemperar los viales de calibradores (Vial CAL-1 de tapón rojo y CAL-2 de tapón verde), así como los viales de Controles (Vial CON-1 de tapón rojo y CON-2 de tapón verde) durante 10 – 15 minutos.	Biólogo
26	Vortear cada uno de los viales y cargar de 5 gotas de cada uno en los pocillos correspondientes en la placa a utilizar.	Biólogo
27	En el programa LUMINEX 100 IS: - En la opción <i>Instrument Calibration</i> : Hacer CLICK en los recuadros asignados para CAL-1, CAL-2, CON-1 y CON-2 para asignarles su posición en la placa cargada con los	Biólogo





## Manual de Procedimiento: Estudio de Anticuerpos Anti HLA Clase I y Clase II por Citometría de Flujo (Luminometría)

	<p>respectivos reactivos.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Pinchar en EJECT/RETRACT para colocar la placa cargada y nuevamente para cerrarla.</li> </ul>	
<b>Lavados</b>		
28	<p>Hacer <b>CLICK</b> en <b>DAILY STARTUP</b>:</p> <p>Ejecutar <b>2 veces Prime</b>: El sistema elimina las posibles burbujas del sistema.</p>	Biólogo
29	<p>Ejecutar <b>Alcohol flush</b>: Expulsar la placa de la plataforma (icono <b>EJECT/RETRACT</b>) y llenar el reservorio con alcohol al 70%. Ejecutar el icono de <b>EJECT/RETRACT</b> para guardar la plataforma y dar en <b>OK</b> para iniciar el proceso. El <i>alcohol flush</i> dura aprox. 5 minutos.</p>	Biólogo
30	<p>Ejecutar <b>Wash</b>: Expulsar la placa de la plataforma (icono <b>EJECT/RETRACT</b>) y llenar el reservorio con líquido del sistema. Luego volver a ejecutar el icono de <b>EJECT/RETRACT</b> para guardar la plataforma y dar en <b>OK</b> para iniciar el proceso. Repetir el proceso de lavado 2 veces más sin cambiar el líquido del sistema del reservorio.</p>	Biólogo
<b>Programación de Adquisición de datos</b>		
Desde el programa Luminex IS 100 software:		
31	<p>Seleccione una plantilla de acuerdo con el ID del catálogo y el número de lote del kit del producto (LABScreen PRA Class I y LABScreen PRA Class II). Descargar la plantilla de la Página web.</p>	Biólogo
32	<p>Cree un nombre de archivo para las muestras que se analizarán.</p>	Biólogo
	<p>Asegúrese de que la configuración de la plantilla sea correcta. Las especificaciones de la plantilla son:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Establezca el volumen de la muestra hasta 50 µl.</li> </ul>	Biólogo





Manual de Procedimiento: Estudio de Anticuerpos Anti HLA Clase I y Clase II por Citometría de Flujo (Luminometría)

	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Establezca el tiempo de espera para la muestra en 80 segundos.</li> <li>- Establezca la separación del discriminador de doblete en 8.000 (límite inferior) y 16.000 (límite superior)</li> <li>- Establezca el número e ID de las bolas seleccionadas de acuerdo con la hoja de trabajo específica proporcionada con el producto.</li> <li>- Establezca los sucesos mínimos recopilados en 100 por microesfera.</li> </ul>	
33	Ingrese los ID de las muestras (si se analiza la misma muestra más de una vez, deberá asignarse un ID diferente.)	Biólogo
34	Cargue la placa en la plataforma XY	Biólogo
35	Pulse el botón START para iniciar la sesión. Después de finalizar el análisis de las muestras, guarde los datos obtenidos en un archivo de tipo .csv.	Biólogo
36	Proceda con el lavado del equipo.	Biólogo
<b>Lavados del equipo</b>		
	<b>Hacer CLICK en DAILY SHUTDOWN</b>	
37	Ejecutar <b>Sanitize</b> : Expulsar la placa de la plataforma (icono EJECT/RETRACT) y llenar el reservorio con lejía al 10%. Luego volver a ejecutar el icono de EJECT/RETRACT para guardar la plataforma y dar en OK para iniciar el proceso.	Biólogo
38	Ejecutar <b>Wash</b> : Expulsar la placa de la plataforma (icono EJECT/RETRACT) y llenar el reservorio con líquido del sistema. Luego volver a ejecutar el icono de EJECT/RETRACT para guardar la plataforma y dar en OK para iniciar el proceso. Repetir el lavado 3 veces.	Biólogo
39	Ejecutar <b>Soak</b> : Expulsar la placa de la plataforma (icono EJECT/RETRACT) y llenar el reservorio con agua destilada. Ejecutar el icono EJECT/RETRACT para guardar la plataforma y dar en OK para iniciar el proceso.	Biólogo
40	Apagar el sistema en el siguiente orden: Ordenador,	Biólogo





Manual de Procedimiento: Estudio de Anticuerpos Anti HLA Clase I y Clase II por Citometría de Flujo (Luminometría)

	citómetro y plataforma	
41	Desajustar los tapones de los bidones de fluido y eliminar el contenido del bidón de desechos.	Biólogo
<b>Análisis de datos</b>		
42	Abrir el programa <i>HLA Fusión 3.3</i> y dar <b>CLICK</b> en <i>LabScreen</i> del menú <i>Analyze Data</i> o de la barra de herramientas de <i>HLA Fusion</i> .	Biólogo
43	Seleccione un archivo de la lista de archivos CSV a importar o haga clic en el icono de carpeta arriba de la lista para explorar en busca de archivos CSV LABScreen en el sistema/red.	Biólogo
44	Antes de importar una sesión nueva, seleccione la muestra de control negativo desde la tabla de detalles de la muestra, y haga clic en <i>Check Controls</i> .	Biólogo
45	Si es necesario, haga clic en la flecha desplegable del campo <b>Default NS</b> para seleccionar un valor predeterminado diferente.	Biólogo
46	Haga clic en <b>Close</b> para regresar a la pantalla anterior de importación de datos.	Biólogo
47	En el <i>árbol Navigator</i> , haga clic en un nombre de sesión. Aparece el resumen de la sesión.	Biólogo
48	Haga doble clic en una muestra de la tabla de resumen para ir directamente a la pantalla de análisis para dicha muestra.	Biólogo
49	Haga clic en cualquier encabezado de columna de la tabla de resumen para organizar la tabla de acuerdo con dicha columna. Las flechas en el encabezado de columna indican el orden de organización—hacia arriba para el orden ascendente y hacia abajo para el orden descendente.	Biólogo
50	Evaluar el control positivo, debe tener un MFI mayor de 1000.	Biólogo
51	Evaluar el control Negativo, debe tener un MFI muy inferior y la relación de MFI del Control positivo/control negativo de ser	Biólogo





Manual de Procedimiento: Estudio de Anticuerpos Anti HLA Clase I y Clase II por Citometría de Flujo (Luminometría)

	mayor a 2.	
52	Evaluar las reacciones de X8, X6, X4, X2 y X1.	Biólogo
53	Evaluar los valores de MFI de las muestras para esta consideración según el <b>Cutt Off</b> determinado por el laboratorio.	Biólogo
54	Excluir los antígenos pertenecientes a la tipificación del paciente.	Biólogo
55	iniciar análisis de especificidades con ayuda de las herramientas del software como la "tabla CREG" o "Find Ag"	Biólogo
56	Realizar la asignación manual de especificidades.	Biólogo
57	Colocar Algún comentario si es requerido y Guardar los cambios..	Biólogo
58	Haga clic en el botón Export para guardar la tabla de resumen en su ordenador o en la red (la ubicación predeterminada es C:\OLI FUSION\data\report). El archivo se guarda en formato Excel (*.XLS).	Biólogo
<b>REPORTE Y EMISIÓN DE RESULTADOS</b>		
59	Elaboración del Reporte de Resultados según Modelo del Laboratorio. <i>Ver Anexo N°05: Reporte de Resultados.</i>	Médico Patólogo Clínico
60	Validación de resultados y correlación clínico-patológica	Médico Patólogo Clínico

**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 biocontaminados en los reservorios adecuados (tacho con bolsa roja).
4. Lavarse las manos con jabón desinfectante disponible





## VIII. DEFINICION

Uno de los bastiones principales del sistema inmunitario para la defensa del organismo frente a cualquier agresión externa es el reconocimiento de los antígenos, después de transformados y presentados sobre las moléculas de histocompatibilidad. Los sistemas de histocompatibilidad, por tanto, juegan un papel muy importante en el desarrollo y función del sistema inmunitario, gracias a su capacidad de presentar antígenos a los linfocitos T encargados de la defensa. El sistema más conocido es el *complejo principal de histocompatibilidad* (MHC ó HLA en el hombre), cuya característica fundamental es su alto grado de *polimorfismo*.

Debido a su implicación en el rechazo de aloinjertos (éste ocurre cuando la respuesta inmunitaria del receptor contra el tejido extraño se induce por los antígenos presentes en el injerto pero ausentes en el receptor), clásicamente, se conocen como *antígenos de trasplante*.

### **Anticuerpos Anti HLA**

La producción de anticuerpos frente a moléculas HLA requiere de un estímulo antigénico previo. Este estímulo se produce cuando el sistema inmune de un individuo entra en contacto con células procedentes de otro individuo cuyas moléculas HLA sean diferentes.

La *aloinmunización anti-HLA* se puede producir durante el embarazo, por transfusiones Sanguíneas, o por trasplantes.

### **Importancia de los Anticuerpos Anti-HLA en Trasplante**

Los anticuerpos preformados anti-HLA, predisponen a rechazo hiperagudo y constituyen un problema sustancial en el trasplante renal.<sup>1</sup> Los estudios de linfocitotoxicidad dependiente de complemento y la prueba de anticuerpos anti-HLA se realizan antes del trasplante para detectar anticuerpos propios del donante y de este modo reducir significativamente el riesgo de rechazo hiperagudo.<sup>1</sup> Las metodologías de detección de anticuerpos han mejorado su nivel de sensibilidad y especificidad. La tecnología de un solo antígeno permite una definición más precisa de anticuerpos específicos en pacientes con altos niveles de anticuerpos anti-HLA. Sin embargo, aún, la detección de bajos niveles de anticuerpos preformados no tiene significado clínico definido en los distintos tipos de trasplante, por tanto, si se utilizan solamente

Fecha: Febrero 2016	Código: M007-HBM/INSN-SB/PC-V.01	Página 22 de 30
---------------------	----------------------------------	-----------------





Manual de Procedimiento: Estudio de Anticuerpos Anti HLA Clase I y Clase II por Citometría de Flujo (Luminometría)

metodologías altamente sensibles para detectar niveles bajos de anticuerpos anti-HLA, la posibilidad de trasplantar pacientes sensibilizados se reduce por la presencia de estos anticuerpos que aún no tienen relevancia clínica demostrada, lo cual repercute en alargar el tiempo de espera para trasplante y persistir en la diálisis con un alto riesgo de mortalidad.<sup>2,3</sup>

**IX. AUTORES, FECHA Y LUGAR, VIGENCIA**

Laboratorio de Histocompatibilidad y Biología Molecular-INSN San Borja.

v.01. Febrero 2016

*Autores:*

Madeley Karín Aliaga Zamudio MsC(c). [maliaga@insnsb.gob.pe](mailto:maliaga@insnsb.gob.pe)

Luis Martin Cruz Díaz MsC(c). [lcruz@insnsb.gob.pe](mailto:lcruz@insnsb.gob.pe)

Juan Huaco Álamo MD. [jhuaco@insnsb.gob.pe](mailto:jhuaco@insnsb.gob.pe)

Luzmila Rodríguez Pinto MD. [lrodriguez@insnsb.gob.pe](mailto:lrodriguez@insnsb.gob.pe)

Cynthia Márquez Serrano MD. [cmarquez@insnsb.gob.pe](mailto:cmarquez@insnsb.gob.pe)

María Benedicta Trinidad Delpino Grecco, MD. [mdelpino@insnsb.gob.pe](mailto:mdelpino@insnsb.gob.pe)

Vigencia: 2 años

**X. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

1. Patel R, Terasaki P. Significance of the positive crossmatch test in kidney transplantation. N Engl J Med. 1969; 280:735–9.
2. Eng H, Bennett G, Tsiopelas E, Lake M, Humphreys I, Chang S, et al. Anti-HLA donor-specific antibodies detected in positive B-cell crossmatches by Luminex predict late graft loss. Am J Transplant. 2008; 8:2335–42.
3. Sanfilippo F, Vaughn W, Peters T, Shield Cr, Adams P, Lorber M, et al. Factors affecting the waiting time of cadaveric kidney transplant candidates in the United States. J Am Med Assoc. 1992; 267:247–52
4. LABScreen PRA Class I and Class II. Product insert. One Lambda, INC.
5. LABScreen Single Antigen HLA Class I y Clase II. Product insert. One Lambda, INC.

Fecha: Febrero 2016	Código: M007-HBM/INSN-SB/PC-V.01	Página 23 de 30
---------------------	----------------------------------	-----------------





**X. ANEXOS**

**Anexo N° 01: CONSENTIMIENTO INFORMADO**

**CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA LABORATORIO DE HISTOCOMPATIBILIDAD**

**(Ley General de Salud N° 26842, RD N° -INSNSB-DG-2015)**

**Procedimiento:** ANTICUERPOS HLA CLASE I Y CLASE II  
POR CITOMETRIA DE FLUJO (%PRA)

**Objetivo del Procedimiento:** Detección de anticuerpos anti HLA clase I y clase II, en pacientes receptores de trasplante de órganos sólido.

**Consecuencias previsibles de su realización:** Valoración de grado de sensibilización del paciente receptor contra antígenos HLA.

**Consecuencias previsibles de su no realización:** Rechazo hiperagudo al trasplante de órgano sólido.

**Riesgos frecuentes:** Ninguno

**Riesgos poco frecuentes:** Hematoma en la zona de venopunción.

Fecha: Febrero 2016	Código: M007-HBM/INSN-SB/PC-V.01	Página 24 de 30
---------------------	----------------------------------	-----------------





**DECLARACION DEL CONSENTIMIENTO:**

Yo Sr/Sra..... de ..... años de edad, con domicilio en .....; DNI....., en calidad de Padre ( ), Madre ( ), o Apoderado ( ), del paciente:....., con número de Historia Clínica:....., con el Diagnóstico:.....

Declaro:

Que el Médico:.....con CMP N°....., me ha explicado que es conveniente/necesario, debido al diagnóstico de mi familiar, la realización de la prueba de detección de ANTICUERPOS HLA CLASE I Y CLASE II POR CITOMETRIA DE FLUJO (%PRA)

Por lo tanto, con la información oportuna, completa, adecuada y sin presión, yo voluntaria y libremente:

SI ( ) NO ( ) doy mi consentimiento para la toma de muestra correspondiente, realización de la prueba de detección de ANTICUERPOS HLA CLASE I Y CLASE II POR CITOMETRIA DE FLUJO (%PRA), almacenamiento y posterior uso para la realización de estudios complementarios de investigación.

Firma del Responsable del paciente  
DNI: .....

Firma de Médico  
CMP:.....  
RNE:.....

Firma de testigo (opcional) del paciente  
DNI:.....

HUELLA  
DIGITAL  
INDICE  
DERECHO





Manual de Procedimiento: Estudio de Anticuerpos Anti HLA Clase I y Clase II por Citometría de Flujo (Luminometría)

**REVOCATORIA DEL CONSENTIMIENTO:**

Yo, Sr/Sra.....  
de..... de edad, DNI....., en calidad de Padre ( ), Madre ( ), o Apoderado ( ), revoco el Consentimiento firmado en fecha.....de..... del ..... y **NO AUTORIZO** la realización de las pruebas de ANTICUERPOS HLA CLASE I Y CLASE II POR CITOMETRIA DE FLUJO (%PRA) asumo las consecuencias que de ello puedan derivarse para la salud o la vida, deslindando de toda responsabilidad al equipo médico y a la Institución.

Lima,.....de.....de.....

.....  
Firma del Responsable del paciente  
DNI: .....

.....  
Firma de Médico  
CMP.....  
RNE.....

.....  
Firma de testigo (opcional) del paciente  
DNI:.....

Formato: HD – CIE-001

Fecha: Febrero 2016	Código: M007-HBM/INSN-SB/PC-V.01	Página 26 de 30
---------------------	----------------------------------	-----------------





PERÚ

Ministerio de Salud

Instituto de Gestión de Servicios de Salud

Instituto Nacional de Salud del Niño – San Borja

"Año de la Consolidación del Mar de Grau"



Manual de Procedimiento: Estudio de Anticuerpos Anti HLA Clase I y Clase II por Citometría de Flujo (Luminometría)

**Anexo N° 02: FICHA EPIDEMIOLOGICA DEL RECEPTOR**

**RECEPTOR**

Datos Personales	
Nombres y Apellidos:	N° de Historia:
Edad:	Fecha de Nacimiento:
Género:	Dirección:
Grupo Sanguíneo:	Estado civil:
N° de hermanos:	Teléfono Fijo/móvil:
N° de Hijos:	Vacunas recibidas:

Datos Clínicos	
Motivo de Referencia:	Medico Tratante:
Diagnóstico: (detalle)	Casos familiares:
Tiempo de Enfermedad:	Enfermedades cursadas:
Tiempo de Tratamiento:	Intervenciones quirúrgicas:
Último Esquema de tratamiento:	Factores de Riesgo:
Última Trásfusión: (Indique el tipo)	

**Otros datos clínicos:**





Anexo N° 03: FICHA EPIDEMIOLOGICA DEL DONANTE

DONANTE	
Datos Personales	
Nombres y Apellidos:	N° de Historia:
Edad:	Fecha de Nacimiento:
Género:	Dirección:
Grupo Sanguíneo:	Estado civil:
N° de hermanos:	Teléfono Fijo/móvil:
N° de Hijos:	Vacunas recibidas:

Datos Clínicos	
Motivo de Referencia:	Médico Tratante:
Grado de parentesco:	Intervenciones quirúrgicas:
Enfermedades cursadas:	Medicamentos ingeridos:
Factores de Riesgo: (transfusiones, abortos, tatuajes, etc)	

Otros datos:





Manual de Procedimiento: Estudio de Anticuerpos Anti HLA Clase I y Clase II por Citometría de Flujo (Luminometría)

Anexo N° 04: Reporte de Resultados: DETECCION DE ANTICUERPOS ANTI-HLA CLASE I Y CLASE II POR CITOMETRIA DE FLUJO (% PRA)

REPORTE DE RESULTADO

DETECCION DE ANTICUERPOS ANTI-HLA CLASE I Y CLASE II POR CITOMETRIA DE FLUJO (% PRA)

Paciente	Edad	Servicio solicitante	HC
Diagnostico	Médico Solicitante	Fecha de toma de muestra	Fecha de resultado

Datos del estudio

Metodología: Citometría de Flujo (LUMINOMETRIA)  
 Sistema: LABScreen PRA Class I and Class II (IVD)  
 Tipo de muestra: Suero  
 Médico Responsable:  
 Analista Responsable:

Resultado:

	%PRA	
	Clase I	Clase II
PACIENTE (RECEPTOR)		

Comentario:

---



---





PERÚ

Ministerio de Salud

Instituto de Gestión de Servicios de Salud

Instituto Nacional de Salud del Niño – San Borja

"Año de la Consolidación del Mar de Grau"



Manual de Procedimiento: Estudio de Anticuerpos Anti HLA Clase I y Clase II por Citometría de Flujo (Luminometría)

Anexo N° 05: Reporte de Resultados: ESTUDIO DE ESPECIFICIDADES DE ANTICUERPOS ANTI-HLA CLASE I Y CLASE II POR CITOMETRIA

REPORTE DE RESULTADO

ESTUDIO DE ESPECIFICIDADES DE ANTICUERPOS ANTI-HLA CLASE I Y CLASE II POR CITOMETRIA DE FLUJO

Table with 4 columns: Paciente, Edad, Servicio solicitante, HC. Second row: Diagnostico, Médico Solicitante, Fecha de toma de muestra, Fecha de resultado.

Datos del estudio

Metodología: Citometría de Flujo (LUMINOMETRIA)
Sistema: LABScreen Single Antigen HLA Class I and Class II (IVD)
Tipo de muestra: Suero
Médico Responsable:
Analista Responsable:

Resultado:

PANEL DE ANTICUERPOS ESPECIFICOS ANTI HLA CLASE I

Table for HLA Class I results with columns for PARA SINGLE HLA CLASE I and rows for Anti HLA-A, B, and C.

PANEL DE ANTICUERPOS ESPECIFICOS ANTI HLA CLASE II

Table for HLA Class II results with columns for PARA SINGLE HLA CLASE II and rows for Anti HLA-DR and DQ.

Comentario:

Two horizontal lines for writing a comment.





PERÚ

Ministerio de Salud

Instituto de Gestión de Servicios de Salud

Instituto Nacional de Salud del Niño – San Borja



"Año de la consolidación del Mar de Grau"

MANUAL DE MANTENIMIENTO Y CALIBRACION DE EQUIPOS



MANUAL DE MANTENIMIENTO Y CALIBRACIÓN DE EQUIPOS

SERVICIO DE PATOLOGÍA CLÍNICA

SUB UNIDAD DE SOPORTE AL DIAGNÓSTICO  
UNIDAD DE SOPORTE AL DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO

Febrero 2016

<p>Elaborado por:</p> <p>Equipo Técnico del Laboratorio de Histocompatibilidad y Biología Molecular del Servicio de Patología Clínica.</p>	<p>Revisado por:</p> <p>Unidad de Soporte al Diagnóstico y Tratamiento. Unidad de Gestión de la Calidad</p>	<p>Aprobado por:</p> <p>Dra. Elizabeth Zulema Tomas Gonzales Directora General del INSN-SB</p>
--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----------------------------------------------------------------------------------------------------

<p>Fecha: Febrero 2016</p>	<p>Código: M008-HBM/INSN- SB/ PC-V.02</p>	<p>Página 1 de 31</p>
----------------------------	-------------------------------------------	-----------------------





MANUAL DE MANTENIMIENTO Y CALIBRACION DE EQUIPOS

MANUAL DE MANTENIMIENTO Y CALIBRACIÓN DE EQUIPOS

Contenido

- I NOMBRE ..... 3
- II PROPÓSITO..... 3
- III ALCANCES..... 3
- IV MARCO LEGAL..... 3
- V NORMAS ..... 4
- VI RECURSOS MATERIALES A UTILIZAR ..... 4
- VII DESCRIPCIÓN DEL PROCEDIMIENTO ..... 6
- VIII DEFINICIÓN ..... 27
- IX AUTORES. FECHA Y LUGAR ..... 27
- X REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS ..... 28
- XI ANEXOS ..... 29

Fecha: Febrero 2016	Código: M008-HBM/INSN- SB/ PC-V.02	Página 2 de 31
---------------------	------------------------------------	----------------





MANUAL DE MANTENIMIENTO Y CALIBRACION DE EQUIPOS

I.- NOMBRE Y CÓDIGO

MANUAL DE MANTENIMIENTO Y CALIBRACION DE EQUIPOS.

II.- PROPÓSITO

Estandarizar los procesos de Mantenimiento básico o mantenimiento diario a cargo del personal Usuario del Laboratorio.

Estandarizar los procesos de Mantenimiento Preventivo a cargo del Personal técnico de la casa comercial, cuya frecuencia es indicada por el fabricante.

III.- ALCANCES

Personal usuario del Laboratorio de Histocompatibilidad y Biología Molecular del INSN-SB.

IV.- MARCO LEGAL

- Ley N° 26842, Ley General de Salud.
- Ley N° 29344, Ley Marco de Aseguramiento Universal en Salud.

Fecha: Febrero 2016	Código: M008-HBM/INSN- SB/ PC-V.02	Página 3 de 31
---------------------	------------------------------------	----------------





## MANUAL DE MANTENIMIENTO Y CALIBRACION DE EQUIPOS

**V. NORMAS**

- R.M. N° 520-2014/MINSA: Norma Técnica de Salud N° 107-MINSA/ONDT-V.01: "Norma Técnica de Salud que regula el Trasplante de Células Progenitoras Hematopoyéticas".
- R.M. N° 999-2007/MINSA: Norma Técnica de Salud N° 061-MINSA/DGSP-V.01: "Norma Técnica de Salud para la acreditación de Establecimientos Donadores- Trasplantadores".
- R.M. N° 302-2015/ MINSA: Norma Técnica de Salud N° 117-MINSA/DGSP-V.01: "Norma Técnica de Salud para la Elaboración y Uso de Guías de Práctica Clínica del Ministerio de Salud".
- R.M. N° 526-2011/MINSA: Normas para la Elaboración de Documentos Normativos del Ministerio de la Salud.

**VI.- RECURSOS MATERIALES A UTILIZAR**

## 5.1. Soluciones

- Agua destilada
- Etanol al 70%.
- Lejía al 10% (o equivalente)
- Sheath Fluid

## 5.2. Equipos

- Sistema Luminex 200
- Espectrofotómetro AQ-07 Nucleic Acid
- Termociclador en gradiente VERITI
- Baño María Calor seco
- Ultracentrífuga refrigerada de mesa
- Ultracongeladora vertical de -70 °C

Fecha: Febrero 2016	Código: M008-HBM/INSN- SB/ PC-V.02	Página 4 de 31
---------------------	---------------------------------------	----------------



**MANUAL DE MANTENIMIENTO Y CALIBRACION DE EQUIPOS**

- Congeladora vertical de -20 °C
- Cabina de Bioseguridad Clase II tipo 2A
- Balanza Analítica
- Vortex
- Centrifuga de placas
- Centrifuga de Pie refrigerada
- Cámara electroforética horizontal
- Transiluminador UV
- Micropipetas
- Rotador de Placas
- Microscopio Binocular con Campo Oscuro

**5.3. Reactivos**

- Calibrador CAL 1
- Calibrador CAL2
- Control CON 1
- Control CON 2

Fecha: Febrero 2016	Código: M008-HBM/INSN- SB/ PC-V.02	Página 5 de 31
---------------------	---------------------------------------	----------------



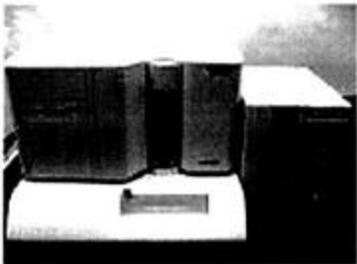


MANUAL DE MANTENIMIENTO Y CALIBRACION DE EQUIPOS

**VII.- DESCRIPCIÓN DEL PROCEDIMIENTO**

**1.1. Analizador de flujo Luminex LABScan™ 200**

El sistema Luminex LABScan™ 200 está diseñado para una amplia gama de aplicaciones de pruebas de laboratorio que miden reacciones biomoleculares en la superficie de microesferas Xmap. Este sistema está diseñado para uso de diagnóstico in-vitro.

EQUIPO	MANTENIMIENTO BASICO	MANTENIMIENTO PREVENTIVO
	Realizado por el Usuario.  <b>Frecuencia:</b> Al inicio y termino de cada proceso.	Realizado por el servicio técnico del Proveedor.  <b>Frecuencia:</b> SEMESTRAL. Ver anexo 01 (Cronograma de Mantenimiento de Equipos).

**MANTENIMIENTO BÁSICO**

Nº Paso	Descripción de Acciones	Responsable
<b>Calibración del Equipo</b>		
El proceso de calibración debe realizarse periódicamente cada vez que se requiera o cuando la temperatura de trabajo es superior a la temperatura de calibración inicial.		
1	Atemperar los viales de calibradores (Vial CAL-1 de tapón rojo y CAL-2 de tapón verde), así como los viales de Controles (Vial CON-1 de tapón rojo y CON-2 de tapón verde) durante 10 – 15 minutos.	Biólogo

Fecha: Febrero 2016	Código: M008-HBM/INSN- SB/ PC-V.02	Página 6 de 31
---------------------	------------------------------------	----------------





MANUAL DE MANTENIMIENTO Y CALIBRACION DE EQUIPOS

2	Vortear cada uno de los viales y cargar de 5 gotas de cada uno en los pocillos correspondientes en la placa a utilizar.	Biólogo
3	<p>En el programa LUMINEX 100 IS:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- En la opción <i>Instrument Calibration</i>: Hacer CLICK en los recuadros asignados para CAL-1, CAL-2, CON-1 y CON-2 para asignarles su posición en la placa cargada con los respectivos reactivos.</li> <li>- Pinchar en EJECT/RETRACT para colocar la placa cargada y nuevamente para cerrarla.</li> </ul>	Biólogo
<b>Mantenimiento Diario – Al Inicio de cada Proceso</b>		
4	<p>Desde el programa Luminex IS 100 software:</p> <p><b>Hacer CLICK en DAILY STARTUP:</b></p> <p><b>Ejecutar 2 veces Prime:</b> El sistema elimina las posibles burbujas del sistema.</p>	Biólogo
5	<p><b>Ejecutar Alcohol flush:</b> Expulsar la placa de la plataforma (icono EJECT/RETRACT) y llenar el reservorio con alcohol al 70%. Ejecutar el icono de EJECT/RETRACT para guardar la plataforma y dar en OK para iniciar el proceso. El <i>alcohol flush</i> dura aprox. 5 minutos.</p>	Biólogo
6	<p><b>Ejecutar Wash:</b> Expulsar la placa de la plataforma (icono EJECT/RETRACT) y llenar el reservorio con líquido del sistema. Luego volver a ejecutar el icono de EJECT/RETRACT para guardar la plataforma y dar en OK para iniciar el proceso. Repetir el proceso de lavado 2 veces más sin cambiar el líquido del sistema del reservorio.</p>	Biólogo





MANUAL DE MANTENIMIENTO Y CALIBRACION DE EQUIPOS

<b>Mantenimiento Diario – Al final de cada Proceso</b>		
	Al finalizar la adquisición retirar la placa y proceder con los lavados correspondientes usando la opción <b>Daily Shutdown</b> :	Biólogo
7	<b>Hacer CLICK en DAILY SHUTDOWN</b> Ejecutar <b>Sanitize</b> : Expulsar la placa de la plataforma (icono EJECT/RETRACT) y llenar el reservorio con lejía al 10%. Luego volver a ejecutar el icono de EJECT/RETRACT para guardar la plataforma y dar en OK para iniciar el proceso.	Biólogo
8	Ejecutar <b>Wash</b> : Expulsar la placa de la plataforma (icono EJECT/RETRACT) y llenar el reservorio con líquido del sistema. Luego volver a ejecutar el icono de EJECT/RETRACT para guardar la plataforma y dar en OK para iniciar el proceso. Repetir el lavado 3 veces.	Biólogo
9	Ejecutar <b>Soak</b> : Expulsar la placa de la plataforma (icono EJECT/RETRACT) y llenar el reservorio con agua destilada. Ejecutar el icono EJECT/RETRACT para guardar la plataforma y dar en OK para iniciar el proceso.	Biólogo
10	Apagar el sistema en el siguiente orden: Ordenador, Citómetro y plataforma	Biólogo
11	Desajustar los tapones de los bidones de fluido y eliminar el contenido del bidón de desechos.	Biólogo





## MANUAL DE MANTENIMIENTO Y CALIBRACION DE EQUIPOS

## 1.2. Espectrofotómetro AQ-07 Nucleic Acid

El espectrofotómetro AQ-07 permite la cuantificación rápida y confiable de ácidos nucleicos (dsDNA, ssDNA, RNA) y proteínas. Así como la determinación de la pureza de los mismos.

EQUIPO	MANTENIMIENTO BASICO	MANTENIMIENTO PREVENTIVO
	<p>Realizado por el Usuario.</p> <p><b>Frecuencia:</b> Al inicio y termino de cada proceso.</p>	<p>Realizado por el servicio técnico del Proveedor.</p> <p><b>Frecuencia:</b> SEMESTRAL. Ver anexo 01 (Cronograma de Mantenimiento de Equipos).</p>

## MANTENIMIENTO BASICO

N° Paso	Descripción de Acciones	Responsable
<b>Al inicio de cada Lectura:</b>		
1	Lavar la micro cubeta del AQ-07 con 10 ul de agua molecular tres veces utilizando la micropipeta de 1 – 10 ul.	Biólogo
<b>Al final del proceso:</b>		
2	Lavar la microcubeta del AQ-07 utilizando 10 ul de Etanol al 70 % y luego lavar con agua molecular.	Biólogo

Fecha: Febrero 2016

Código: M008-HBM/INSN- SB/  
PC-V.02

Página 9 de 31





## MANUAL DE MANTENIMIENTO Y CALIBRACION DE EQUIPOS

## 1.3. Termociclador en gradiente VERITI

Equipo para la realización de Reacción en cadena de la polimerasa (PCR), con sistema de gradiente y calentador por sistema peltier, el cual reduce los tiempos de calentamiento y enfriamiento. Capacidad para 96 pocillos.

EQUIPO	MANTENIMIENTO BASICO	MANTENIMIENTO PREVENTIVO
	Realizado por el Usuario.  Frecuencia: Semanal.	Realizado por el servicio técnico del Proveedor.  Frecuencia: SEMESTRAL. Ver anexo 01 de de (Cronograma de Mantenimiento Equipos).

## MANTENIMIENTO BASICO

N° Paso	Descripción de Acciones	Responsable
<b>Al inicio de la semana:</b>		
1	Apagar y desconectar el equipo del tomacorriente.	Biólogo
2	Limpiar cada pocillo utilizando un hisopo y Etanol al 70 % en solución acuosa.	Biólogo
3	Dejar secar por evaporación.	Biólogo





## MANUAL DE MANTENIMIENTO Y CALIBRACION DE EQUIPOS

## 1.4. Ultracentrifuga refrigerada de mesa

Equipo de centrifugación hasta 16,000 rpm para microtubos de 1.5 ml y 2 ml, refrigerada, destinada a los procesos de extracción de ADN.

EQUIPO	MANTENIMIENTO BASICO	MANTENIMIENTO PREVENTIVO
	Realizado por el Usuario.  Frecuencia: Diario.	Realizado por el servicio técnico del Proveedor.  Frecuencia: SEMESTRAL. Ver anexo 01 (Cronograma de Mantenimiento de Equipos).

## MANTENIMIENTO BASICO

N° Paso	Descripción de Acciones	Responsable
<b>Al inicio de cada uso:</b>		
1	Verificar las alarmas del equipo al momento de encenderlo.	Biólogo/técnico
2	Apagar y desconectar el equipo del tomacorriente.	Biólogo/técnico
<b>Al final del día:</b>		
3	Limpieza de superficies externas e internas (rotor) con etanol al 70%.	Biólogo/técnico
4	Dejar secar por evaporación	Biólogo/técnico





## MANUAL DE MANTENIMIENTO Y CALIBRACION DE EQUIPOS

## 1.5. Baño Maria Calor seco

Bloque térmico con capacidad para 20 microtubos de 1.5 ml ó 2.0 ml. Utilizada para realizar incubaciones durante el procesamiento de extracción de ácidos nucleicos (ADN). Temperatura regulada electrónicamente y por termómetro externo. Temperatura máxima 150°.

EQUIPO	MANTENIMIENTO BASICO	MANTENIMIENTO PREVENTIVO
	Realizado por el Usuario.  Frecuencia: Diario.	Realizado por el servicio técnico del Proveedor.  Frecuencia: ANUAL. Ver anexo 01 (Cronograma de Mantenimiento de Equipos).

## MANTENIMIENTO BASICO

N° Paso	Descripción de Acciones	Responsable
<b>Al inicio de cada uso:</b>		
1	Verificar la temperatura programada electrónicamente con el termómetro externo	Biólogo
<b>Al final del día:</b>		
2	Apagar y desconectar el equipo de la toma de corriente.	Biólogo
3	Limpieza de superficies externas con etanol al 70%.	Biólogo
4	Dejar secar por evaporación	Biólogo

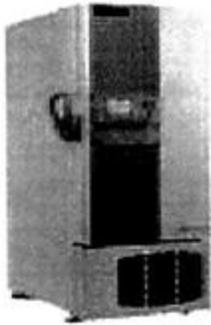




## MANUAL DE MANTENIMIENTO Y CALIBRACION DE EQUIPOS

## 1.6. Ultracongeladora vertical de -70 °C

Equipo de congelamiento en frío destinado a conservar a -70 °C reactivos y muestras biológicas en óptimas condiciones. El sistema de control y alarmas permite una monitorización constante.

EQUIPO	MANTENIMIENTO BASICO	MANTENIMIENTO PREVENTIVO
	<p><b>Inspección diaria:</b> Realizada por el usuario</p> <p><b>Limpieza y descongelamiento:</b> Realizado por el Servicio de mantenimiento de la Institución.</p> <p>Frecuencia: SEMESTRAL o cada vez que se requiera.</p>	<p>Realizado por el servicio técnico del Proveedor.</p> <p><b>Frecuencia: ANUAL.</b> Ver anexo 01 (Cronograma de Mantenimiento de Equipos).</p>

## MANTENIMIENTO BASICO

N° Paso	Descripción de Acciones	Responsable
<b>Inspección diaria:</b>		
1	Verificar las alarmas del equipo	Técnico/biólogo
2	Registrar las temperaturas marcadas por el equipo en el registro de temperatura del congelador.	Técnico/biólogo
<b>Limpieza y descongelamiento:</b>		
3	Si se observa alguna mancha de color extraño en los interiores del congelador o la escarcha formada	Personal de Mantenimiento
4	Trasladar los reactivos y/o muestras mantenidos en el congelador a otro de iguales condiciones de temperatura.	Personal de Mantenimiento
5	Apagar el congelador y permitir que el interior del mismo alcance la temperatura ambiente.	Personal de Mantenimiento
6	Retirar el hielo y agua acumulada en el interior del congelador.	Personal de Mantenimiento
7	Preceder con la limpieza respectiva utilizando solución detergente suave.	Personal de Mantenimiento

Fecha: Febrero 2016	Código: M008-HBM/INSN- SB/ PC-V.02	Página 13 de 31
---------------------	---------------------------------------	-----------------





## MANUAL DE MANTENIMIENTO Y CALIBRACION DE EQUIPOS

## 1.7. Congeladora vertical de -20 °C

Equipo de congelamiento en frío destinado a conservar a -20 °C reactivos y muestras biológicas en óptimas condiciones. El sistema de control y alarmas permite una monitorización constante.

EQUIPO	MANTENIMIENTO BASICO	MANTENIMIENTO PREVENTIVO
	<p><b>Inspección diaria:</b> Realizada por el usuario</p> <p><b>Limpieza y descongelamiento:</b> Realizado por el Servicio de mantenimiento de la Institución.</p> <p>Frecuencia: SEMESTRAL o cada vez que se requiera</p>	<p>Realizado por el servicio técnico del Proveedor.</p> <p><b>Frecuencia:</b> SEMESTRAL. Ver anexo 01 (Cronograma de Mantenimiento de Equipos).</p>

## MANTENIMIENTO BASICO

N° Paso	Descripción de Acciones	Responsable
<b>Inspección diaria:</b>		
1	Verificar las alarmas del equipo	Técnico/biólogo
2	Registrar las temperaturas marcadas por el equipo en el registro de temperatura del congelador.	Técnico/biólogo
<b>Limpieza y descongelamiento</b>		
3	Si se observa alguna mancha de color extraño en los interiores del congelador o la escarcha formada	Personal de Mantenimiento
4	Trasladar los reactivos y/o muestras mantenidos en el congelador a otro de iguales condiciones de temperatura.	Personal de Mantenimiento
5	Apagar el congelador y permitir que el interior del mismo alcance la temperatura ambiente.	Personal de Mantenimiento
6	Retirar el hielo y agua acumulada en el interior del congelador.	Personal de Mantenimiento
7	Preceder con la limpieza respectiva utilizando solución detergente suave.	Personal de Mantenimiento

Fecha: Febrero 2016

Código: M008-HBM/INSN- SB/  
PC-V.02

Página 14 de 31

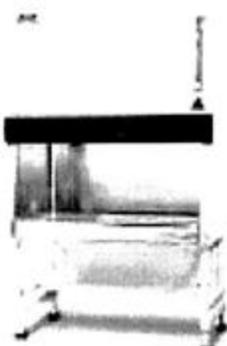




MANUAL DE MANTENIMIENTO Y CALIBRACION DE EQUIPOS

1.8. Cabina de bioseguridad Clase II tipo 2A

Las cabinas de bioseguridad (CBS), comúnmente conocidas como cabinas de seguridad biológica, son equipos proyectados para ofrecer protección al usuario y al ambiente de los riesgos asociados al manejo de material infeccioso y otros materiales biológicos peligrosos, excluyendo materiales radiactivos, tóxicos y corrosivos, mejorando las condiciones generales bajo las cuales se realizan una gran variedad de actividades en los laboratorios clínicos y de investigación en el área de salud pública.

EQUIPO	MANTENIMIENTO BASICO	MANTENIMIENTO PREVENTIVO
	<p><b>Limpieza diaria:</b> Realizado por el Usuario.</p> <p><b>Frecuencia:</b> Diario o después de cada uso</p> <p><b>Descontaminación:</b> Realizado por el Usuario.</p> <p><b>Frecuencia:</b> Semanal o cuando se requiera.</p>	<p>Realizado por el servicio técnico del Proveedor.</p> <p><b>Frecuencia:</b> CADA 4 MESES. Ver anexo 01 (Cronograma de Mantenimiento de Equipos).</p>

MANTENIMIENTO BASICO

Nº Paso	Descripción de Acciones	Responsable
<b>Limpieza diaria</b>		
1	Descontaminar la superficie de trabajo de la cabina con un paño y alcohol al 70%.	Técnico/biólogo
<b>Descontaminación</b>		
2	Bajar la guillotina de la cabina, encender la luz UV y salir del ambiente hasta que se cumplan los 15 minutos de radiación programados	Técnico/biólogo

Fecha: Febrero 2016	Código: M008-HBM/INSN- SB/ PC-V.02	Página 15 de 31
---------------------	------------------------------------	-----------------





## MANUAL DE MANTENIMIENTO Y CALIBRACION DE EQUIPOS

## 1.9. Balanza de Precisión

La balanza es un instrumento que se utiliza para medir la masa o peso de un cuerpo o sustancia, dado que entre masa y peso existe una relación bien definida. En el laboratorio se utiliza la balanza para efectuar actividades de control de calidad para preparar mezclas de componentes en proporciones predefinidas y para determinar densidades o pesos específicos.

EQUIPO	MANTENIMIENTO BASICO	MANTENIMIENTO PREVENTIVO
	Realizado por el Usuario.  Frecuencia: Diario o cada vez que se requiera.	Realizado por el servicio técnico del Proveedor.  Frecuencia: ANUAL. Ver anexo 01 (Cronograma de Mantenimiento de Equipos).

## MANTENIMIENTO BASICO

N° Paso	Descripción de Acciones	Responsable
<b>Limpieza Diaria</b>		
1	Verificar la limpieza (claridad) del platillo y superficies de la balanza	Técnico/biólogo
2	Desconectar el equipo y limpiar con un paño limpio y húmedo el platillo y las superficies del instrumento.	Técnico/biólogo





MANUAL DE MANTENIMIENTO Y CALIBRACION DE EQUIPOS

1.10. Vortex

Es un agitador de tubos diseñado para ser usado con un tubo o hasta con múltiples tubos según se requiera. Proporciona una homogenización constante de mezclas y muestras biológicas.

EQUIPO	MANTENIMIENTO BASICO	MANTENIMIENTO PREVENTIVO
	Realizado por el Usuario.  <b>Frecuencia:</b> Diario o cada vez que se requiera.	Realizado por el servicio técnico del Proveedor.  <b>Frecuencia:</b> SEMESTRAL. Ver anexo 01 (Cronograma de Mantenimiento de Equipos).

MANTENIMIENTO BASICO

N° Paso	Descripción de Acciones	Responsable
<b>Limpieza Diaria</b>		
1	Desconectar el equipo y limpiar con un paño limpio las superficies del instrumento.	Técnico/biólogo





## MANUAL DE MANTENIMIENTO Y CALIBRACION DE EQUIPOS

## 1.11. Centrifuga de placas

La centrifuga de placas está diseñada para centrifugar placas de PCR o placas de ELISA con la finalidad de lograr la sedimentación homogénea de los componentes de una mezcla de reacción.

EQUIPO	MANTENIMIENTO BASICO	MANTENIMIENTO PREVENTIVO
	Realizado por el Usuario.  <b>Frecuencia:</b> Diario o cada vez que se requiera.	Realizado por el servicio técnico del Proveedor.  <b>Frecuencia:</b> SEMESTRAL. Ver anexo 01 (Cronograma de Mantenimiento de Equipos).

## MANTENIMIENTO BASICO

N° Paso	Descripción de Acciones	Responsable
<b>Al inicio de cada uso:</b>		
1	Verificar las alarmas del equipo al momento de encenderlo.	Biólogo
<b>Al final del día:</b>		
2	Apagar y desconectar el equipo del tomacorriente.	Biólogo
3	Limpieza de superficies externas e internas (rotor) con etanol al 70% en solución acuosa.	Biólogo
4	Dejar secar por evaporación	Biólogo





## MANUAL DE MANTENIMIENTO Y CALIBRACION DE EQUIPOS

## 1.12. Centrifuga de Pie refrigerada

Es un equipo diseñado para la separación de los componentes o fases de una mezcla. En el laboratorio se utiliza para la obtención de suero, plasma, u otros componentes a partir de muestras de sangre.

EQUIPO	MANTENIMIENTO BASICO	MANTENIMIENTO PREVENTIVO
	Realizado por el Usuario.  <b>Frecuencia:</b> Diario o cada vez que se requiera.	Realizado por el servicio técnico del Proveedor.  <b>Frecuencia:</b> ANUAL. Ver anexo 01 (Cronograma de Mantenimiento de Equipos).

## MANTENIMIENTO BASICO

Nº Paso	Descripción de Acciones	Responsable
<b>Al inicio de cada uso:</b>		
1	Verificar las alarmas del equipo al momento de encenderlo.	Biólogo/técnico
<b>Al final del día:</b>		
2	Apagar y desconectar el equipo del tomacorriente.	Biólogo/técnico
3	Limpieza de superficies externas e internas (rotor) con etanol al 70%.	Biólogo/técnico
4	Dejar secar por evaporación	Biólogo/técnico





MANUAL DE MANTENIMIENTO Y CALIBRACION DE EQUIPOS

1.13. Cámara electroforética horizontal

La electroforesis es un método básico en el campo de la biología molecular para el análisis (Separación) de los ácidos nucleicos y proteínas. Consiste en la migración de las moléculas a través de un gel u otro tipo de matriz de naturaleza porosa, en el cual, por acción de un campo eléctrico, serán separadas de acuerdo a su tamaño o peso molecular

EQUIPO	MANTENIMIENTO BASICO	MANTENIMIENTO PREVENTIVO
	Realizado por el Usuario.  <b>Frecuencia:</b> Diaria o al final del proceso.	Realizado por el servicio técnico del Proveedor.  <b>Frecuencia:</b> SEMESTRAL. Ver anexo 01 (Cronograma de Mantenimiento de Equipos).

MANTENIMIENTO BASICO

Nº Paso	Descripción de Acciones	Responsable
<b>Al final del proceso:</b>		
1	Desconectar los electrodos de la Cámara electroforética.	Biólogo
2	Vaciar el contenido del Buffer de corrida en el reservorio correspondiente.	
3	Secar la cámara con un paño absorbente.	Biólogo
4	Dejar la cámara destapada a temperatura ambiente	Biólogo

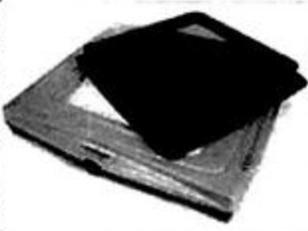




## MANUAL DE MANTENIMIENTO Y CALIBRACION DE EQUIPOS

## 1.14. Transiluminador UV

El transiluminador es un equipo que utiliza luz ultravioleta (UV), permite observar, analizar y tomar fotografías de ácidos nucleicos en geles de agarosa teñidos con colorantes intercalantes como el bromuro de Etidio entre otros disponibles en el mercado.

EQUIPO	MANTENIMIENTO BASICO	MANTENIMIENTO PREVENTIVO
M A N T E N I M I E N T O  	<b>Limpieza:</b> Realizado por el Usuario.  <b>Frecuencia:</b> semanal	Realizado por el servicio técnico del Proveedor.  <b>Frecuencia:</b> SEMESTRAL. Ver anexo 01 <i>(Cronograma de Mantenimiento de Equipos).</i>

## MANTENIMIENTO BASICO

Nº Paso	Descripción de Acciones	Responsable
<b>Limpieza semanal</b>		
1	Apagar y desconectar el equipo.	Biólogo
2	Limpiar con un paño húmedo con Etanol al 70% en solución acuosa.	Biólogo
3	Dejar secar por evaporación a temperatura ambiente	Biólogo





## MANUAL DE MANTENIMIENTO Y CALIBRACION DE EQUIPOS

## 1.15. Micropipetas

Son dispositivos que se utilizan para medir o transvasar pequeños volúmenes de líquido de un recipiente a otro, con gran exactitud y precisión.

EQUIPO	MANTENIMIENTO BASICO	MANTENIMIENTO PREVENTIVO
	<p><b>Inspección diaria:</b> Realizada por el usuario</p> <p><b>Limpieza:</b> Realizado por el Usuario cada vez que se requiera.</p> <p><b>Desinfección:</b> Realizado por el Usuario cada vez que se requiera.</p>	<p>Realizado por el servicio técnico del Proveedor.</p> <p><b>Frecuencia:</b> ANUAL. Ver anexo 01 (Cronograma de Mantenimiento de Equipos).</p>

## MANTENIMIENTO BASICO

Nº Paso	Descripción de Acciones	Responsable
<b>Inspección diaria</b>		
1	Verificar la integridad y ajuste de los mecanismos.	Biólogo
2	Verificar que el pistón se desplace suavemente.	Biólogo
3	Colocar una punta y llenarla con agua destilada, observar que no se presente algún tipo de fuga.	Biólogo
<b>Limpieza</b>		
4	Verificar cada día que la micropipeta de encuentre limpia en sus superficies exteriores e interiores.	Biólogo
5	Si se detecta suciedad, desensamblar la micropipeta y limpiar las partes con Isopropanol al 60 %.	Biólogo
6	Lavar con agua destilada y dejar secar a temperatura ambiente.	Biólogo
7	Volver a ensamblar la micropipeta	Biólogo
<b>Descontaminación</b>		
8	Después del procedimiento de lavado, autoclavar las partes desensambladas de la micropipeta a 121 °C por 20 minutos.	Biólogo





## MANUAL DE MANTENIMIENTO Y CALIBRACION DE EQUIPOS

9	Cuando el ciclo de esterilización haya terminado y la temperatura se haya estabilizado con la temperatura ambiente proceder con el ensamblaje de la micropipeta.	Biólogo
---	------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	---------

## 1.16. Rotador de Placas

El equipo rotador de placas no fue considerado en la versión anterior, es incluido en el presente manual, como parte del proceso de detección de anticuerpos anti HLA clase I y clase II.

El rotador de placas es un equipo utilizado para mezclar homogéneamente, a una velocidad y temperatura constante soluciones y/o mezclas de reacciones contenidas en una placa de Elisa.

EQUIPO	MANTENIMIENTO BASICO	MANTENIMIENTO PREVENTIVO
	Realizado por el Usuario.  <b>Frecuencia:</b> Diario o cada vez que se requiera.	Realizado por el servicio técnico del Proveedor.  <b>Frecuencia:</b> SEMESTRAL. Ver anexo 01 (Cronograma de Mantenimiento de Equipos).

N° Paso	Descripción de Acciones	Responsable
<b>Limpieza Diaria</b>		
1	Desconectar el equipo y limpiar con un paño limpio las superficies del instrumento.	Técnico/biólogo

Fecha: Febrero 2016	Código: M008-HBM/INSN- SB/ PC-V.02	Página 23 de 31
---------------------	------------------------------------	-----------------





## MANUAL DE MANTENIMIENTO Y CALIBRACION DE EQUIPOS

## 1.17. Microscopio Binocular con Campo Oscuro

El equipo Microscopio binocular con campo oscuro no fue considerado en la versión anterior, es incluido en el presente manual, como parte del proceso de detección de anticuerpos anti HLA clase I y clase II.

El microscopio con campo oscuro es un microscopio óptico donde solo la luz difractada desde el espécimen se usa para formar la imagen. El espécimen aparece brillante contra un fondo oscuro. Es ideal para revelar contornos, bordes, fronteras y gradientes de índice de refracción pero no brinda mucha información sobre la estructura interna. Los objetos ideales incluyen células vivas sin tinción (donde el campo oscuro brinda información no visible con otras técnicas), aunque también se pueden observar exitosamente células fijas teñidas. Las imágenes de campo oscuro son particularmente útiles en hematología para examinar sangre fresca. Los especímenes no biológicos incluyen minerales, cristales químicos, partículas coloidales, inclusiones y porosidad en vidrio, cerámicas, y secciones delgadas de polímeros.

EQUIPO	MANTENIMIENTO BASICO	MANTENIMIENTO PREVENTIVO
	<p><b>Limpieza:</b> Realizado por el Usuario.</p> <p><b>Frecuencia:</b> Después de cada uso.</p>	<p>Realizado por el servicio técnico del Proveedor.</p> <p><b>Frecuencia:</b> ANUAL Ver anexo 01 (Cronograma de Mantenimiento de Equipos).</p>





## MANUAL DE MANTENIMIENTO Y CALIBRACION DE EQUIPOS

## MANTENIMIENTO BASICO

N° Paso	Descripción de Acciones	Responsable
<b>Limpieza al finalizar su uso:</b>		
1	Apagar y desconectar el equipo.	Biólogo
2	Limpiar las partes mecánicas con un paño suave.	Biólogo
3	Humedecer el paño con Xilol si se ha trabajado con aceite de inmersión para limpiar las superficies afectadas.	Biólogo
4	Limpiar las lentes oculares, removiendo el polvo utilizando un pincel fino y plano hecho con pelo de camello o un paño de lino fino.	Biólogo
5	La limpieza de las lentes del condensador se hará, con igual cuidado externamente, sin desarmar el dispositivo.	Biólogo
6	El espejo se limpiará con un paño fino.	Biólogo
7	No tocar las lentes con los dedos.	Biólogo
8	No utilizar alcohol para limpiar las superficies del sistema mecánico.	Biólogo
9	Para guardar el microscopio colocar el objetivo de menos aumento sobre la platina bajando hasta el tope, el condensador debe estar en su posición más baja.	Biólogo
10	Los lentes que no estén en uso, deben ser colocados en dispositivos con tapa de rosca para preservarlos del polvo.	Biólogo

Fecha: Febrero 2016

Código: M008-HBM/INSN- SB/  
PC-V.02

Página 25 de 31





MANUAL DE MANTENIMIENTO Y CALIBRACION DE EQUIPOS

1.18. Microscopio Binocular

El equipo Microscopio binocular no fue considerado en la versión anterior, es incluido en el presente manual, como parte del proceso de detección de anticuerpos anti HLA clase I y clase II.

También conocido como microscopio de luz o microscopio de campo claro, está basado en la utilización de dos sistemas de lentes convergentes: el objetivo y el ocular que permiten estudiar la estructura microscopía de la materia viva. Son muy útiles para la realización de exámenes clínicos en el campo de la medicina, exámenes de laboratorio e investigaciones biológicas, bacteriológicas y farmacéuticas.

EQUIPO	MANTENIMIENTO BASICO	MANTENIMIENTO PREVENTIVO
	<b>Limpieza:</b> Realizado por el Usuario.  <b>Frecuencia:</b> Después de cada uso.	Realizado por el servicio técnico del Proveedor.  <b>Frecuencia:</b> SEMESTRAL Ver anexo 01 (Cronograma de Mantenimiento de Equipos).

MANTENIMIENTO BASICO

N° Paso	Descripción de Acciones	Responsable
<b>Limpieza al finalizar su uso:</b>		
1	Apagar y desconectar el equipo.	Biólogo
2	Limpiar las partes mecánicas con un paño suave.	Biólogo





**MANUAL DE MANTENIMIENTO Y CALIBRACION DE EQUIPOS**

3	Humedecer el paño con Xilol si se ha trabajado con aceite de inmersión para limpiar las superficies afectadas.	Biólogo
4	Limpiar las lentes oculares, removiendo el polvo utilizando un pincel fino y plano hecho con pelo de camello o un paño de lino fino.	Biólogo
5	La limpieza de las lentes del condensador se hará, con igual cuidado externamente, sin desarmar el dispositivo.	Biólogo
6	El espejo se limpiará con un paño fino.	Biólogo
7	No tocar las lentes con los dedos.	Biólogo
8	No utilizar alcohol para limpiar las superficies del sistema mecánico.	Biólogo
9	Para guardar el microscopio colocar el objetivo de menos aumento sobre la platina bajando hasta el tope, el condensador debe estar en su posición mas baja.	Biólogo
10	Los lentes que no estén en uso, deben ser colocados en dispositivos con tapa de rosca para preservarlos del polvo.	Biólogo

**VIII.- DEFINICIÓN**

El desarrollo alcanzado a nivel tecnológico y científico ha incorporado en los equipos infinidad de funciones y modos particulares de operación, que necesariamente con llevan a implementar programas que permitan mantener dicho equipamiento en las mejores condiciones de operación. El presente manual contempla los pasos a seguir para la realización de las siguientes rutinas de mantenimiento:

1. Mantenimiento básico o mantenimiento Diario a cargo del personal Usuario del Laboratorio.
2. Mantenimiento Preventivo a cargo del Personal técnico de la casa comercial, cuya frecuencia es semestral o anual según lo indicado por el fabricante.

**IX.- AUTORES. FECHA Y LUGAR. VIGENCIA**

Laboratorio de Histocompatibilidad y Biología Molecular-INSN San Borja.

v.01. 15 Julio 2015. 18:00 pm

v.02. 22 Febrero 2016 18.00 pm

*Autores:*

Madeley Karín Aliaga Zamudio MsC(c). [maliaga@insnsb.gob.pe](mailto:maliaga@insnsb.gob.pe)

Fecha: Febrero 2016	Código: M008-HBM/INSN- SB/ PC-V.02	Página 27 de 31
---------------------	------------------------------------	-----------------





MANUAL DE MANTENIMIENTO Y CALIBRACION DE EQUIPOS

Luis Martin Cruz Díaz MsC(c). [lcruz@insnsb.gob.pe](mailto:lcruz@insnsb.gob.pe)

Juan Huaco Álamo MD. [jhuaco@insnsb.gob.pe](mailto:jhuaco@insnsb.gob.pe)

Luzmila Rodríguez Pinto MD. [lrodriguez@insnsb.gob.pe](mailto:lrodriguez@insnsb.gob.pe)

Cynthia Márquez Serrano MD. [cmarquez@insnsb.gob.pe](mailto:cmarquez@insnsb.gob.pe)

María Benedicta Trinidad Delpino Grecco, MD. [mdelpino@insnsb.gob.pe](mailto:mdelpino@insnsb.gob.pe)

Vigencia 2 años.

**X.- REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

1. Organización Panamericana de la Salud. Manual de mantenimiento para equipos de Laboratorio. Washington D. C 2005.
2. Dirección de Medicamentos y Tecnologías en Salud Superintendencia de Industria y Comercio. Guía Rápida para las Mediciones en Equipos Biomédicos. Bogotá. 2005.
3. LUMINEX CORPORATION. Manual de Usuario del Sistema Luminex 200.EE.UU.2005
4. AmpliQuant. Manual de Usuario del Espectrofotómetro AQ-07 Nucleic Acid.2009.
5. Applied Biosystems. Manual de Usuario de Veriti™ Thermal Cyclers.2010.
6. Thermo Scientific Manual de Usuario de Ultracentrifuga refrigerada de mesa
7. J.P. SELECTA. Manual de Usuario de Baño María Calor seco
8. Thermo Scientific. Manual de Usuario de Ultracongeladora vertical de -70 °C
9. Thermo Scientific Manual de Usuario de Congeladora vertical de -20 °C
10. ESCO. Manual de Usuario de Cabina de Bioseguridad Clase II tipo 2A
11. A&D Company. Manual de Usuario de la Balanza Analítica
12. Thermo Scientific. Manual de Usuario de Vortex
13. AWEL CENTRIFUGES. Manual de Usuario de centrifuga de placas
14. Thermo Scientific. Manual de Usuario de Centrifuga de Pie refrigerada
15. Life Technologies. Manual de Usuario Cámara electroforética horizontal
16. Invitrogen. Manual de Usuario Transiluminador UV
17. GILSON. Manual de Usuario de Micropipetas monocanal de 1 – 10 ul, 2 – 20 ul, 10 – 100 ul, 100 – 1000 ul.
18. GILSON. Manual de Usuraio de Micropipeta multicanal de 20 – 300 ul, 0.5 – 10 ul.
19. UNICO. Manual de Usuario de Rotador de placas.
20. CARL ZEISS. Manual de Usuario de microscopio binocular con campo oscuro.
21. LEICA. Manual de Usuario de microscopio binocular.

Fecha: Febrero 2016	Código: M008-HBM/INSN- SB/ PC-V.02	Página 28 de 31
---------------------	------------------------------------	-----------------





PERÚ

Ministerio de Salud

Instituto de Gestión de Servicios de Salud

Instituto Nacional de Salud del Niño – San Borja



“Año de la consolidación del Mar de Grau”

MANUAL DE MANTENIMIENTO Y CALIBRACION DE EQUIPOS

XI.- ANEXOS

Anexo 01: Orden de Trabajo de Mantenimiento (OTM)

**Ministerio de Salud**  
*Personas que trascienden fronteras*

**insn**  
*Instituto Nacional de Salud del Niño*

**ORDEN DE TRABAJO DE MANTENIMIENTO**  
Elaborado por Ingeniería Clínica y Mantenimiento

DEPENDENCIA DE SALUD		N°			
INSTITUTO NACIONAL DE SALUD DEL NIÑO SAN BORJA		Día	Mes	Año	
AREA USUARIA			UBICACIÓN FÍSICA		
DENOMINACION DEL EQUIPO		MARCA	MODELO	SERIE	COODIGO PATRIMONIAL
PROBLEMA PRESENTADO EN EL EQUIPO					
FIRMA Y SELLO DEL SOLICITANTE		FECHA DE EMISION		FIRMA Y SELLO DE RECEPCION	
DIAGNOSTICO TECNICO				PRIORIDAD	
				MUY URGENTE <input type="checkbox"/>	
				URGENTE <input type="checkbox"/>	
				PROGRAMAR <input type="checkbox"/>	
ENCARGADO MANTENIMIENTO		FECHA		MODALIDAD DE ATENCION	
				PERSONAL PROPIO <input type="checkbox"/>	
				SERVICIO DE TERCEROS <input type="checkbox"/>	
DESCRIPCION DEL TRABAJO DE MANTENIMIENTO EJECUTADO					
FECHA DE INICIO		FECHA DE TERMINO		GARANTIA DEL SERVICIO	
RECOMENDACIONES DE USO Y MANTENIMIENTO					





