

Aseguramiento de Calidad en el Laboratorio de Biología Molecular: Control de Contaminación Ambiental

 17 min.



La técnica de PCR es desde su descubrimiento en el año 1986 la técnica más usada por su especificidad y su exactitud pero esto lleva a que sea altamente susceptible a la contaminación ambiental por lo que es necesario contar con estrictos controles de calidad. En el presente trabajo se aborda esta problemática y nos propone la implementación de medidas correctivas para lograr excelencia y exactitud en los resultados.



Quillen Amigo (1), María Florencia Garbarello (1), Eliana Maricel Otarola (1), María Amelia Nardi (1), Cecilia Ariana Frecha (2), Aida Furci (1), José Oyhamburu (3)

1. Bioquímica.

2. Lic. en Bioquímica. Doctor por la Universidad de Granada. Diploma de Estudios Avanzados en Inmunología Molecular y Celular. Investigador del CONICET. Hospital Italiano de Buenos Aires.

3. Bioquímico.

Laboratorio Central, Hospital Italiano de Buenos Aires, Argentina.

Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana 2018

Correspondencia

Bioq. Aida Furci

Ciudad Autónoma de Buenos Aires

E-mail:

docencia.laboratorio@hospitalitaiano.org.ar



Resumen

La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) es la técnica más importante en Biología Molecular. Su principal deficiencia es la susceptibilidad a la contaminación de la muestra, ya sea con productos de amplificación generados en reacciones previas o con material genético proveniente de otras muestras. Se entiende por contaminación a la presencia indeseada de moléculas de ADN o ARN, que pueden actuar como templados en reacciones de amplificación. El objetivo del trabajo fue demostrar la importancia de la implementación de un control de contaminación ambiental periódico monitoreando la integridad del circuito de PCR. Para ello, se hisoparon puntos correspondientes a diferentes áreas de trabajo y se investigó la presencia de amplicones mediante PCR Real Time en Lighcycler 2.0, Roche® y Ampliprep Cobas s201, Roche®. En puntos críticos del circuito (flujo laminar o la cabina de seguridad del área de pre-PCR) no se detectaron amplicones, aunque sí se hallaron en las mesadas y heladeras. En el resto del circuito, la distribución de los amplicones fue variable. De esta forma se demuestra la importancia de la realización de un control de contaminación ambiental periódico en laboratorios que realizan la técnica de PCR, pudiendo detectar contaminación de forma precoz y tomar acciones correctivas a tiempo.

Palabras clave: reacción en cadena de la polimerasa * circuito de PCR * contaminación por amplicones * buenas prácticas de laboratorio * laboratorio de biología molecular

Introducción

El Laboratorio de Biología Molecular se basa fundamentalmente en el empleo de la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR). Esta reacción fue descubierta en 1986 por K. Mullis y consiste en la amplificación *in vitro* del ADN por medio de una reacción enzimática específica (1). La implementación de esta técnica en el laboratorio bioquímico clínico fue revolucionaria por su rapidez y versatilidad (2). Además, es altamente específica y sensible por lo que requiere mínima cantidad de muestra para su realización (3). Es justamente, debido a esta elevada sensibilidad analítica, que el principal riesgo de la PCR es su susceptibilidad a la contaminación (4).

En el laboratorio de Biología Molecular la contaminación se define como la presencia indeseada de moléculas de ADN o ARN, que pueden actuar como templados en las reacciones de amplificación (5). Esto podría llevar a la necesidad de realizar repeticiones de los procedimientos, con su consecuente costo económico e, incluso, derivar en problemas diagnósticos como son los resultados falsos positivos (3).

Si bien la contaminación es un fenómeno que suele ser subestimado, ya en 1988 se reportó por primera vez un resultado falso positivo en la detección de genoma del Virus de la Hepatitis B por esta problemática (5). A partir de entonces numerosos artículos fueron publicados describiendo este fenómeno y proponiendo pautas de trabajo para evitar su efecto negativo sobre la seguridad del paciente (6).

Las diferentes fuentes de contaminación reportadas incluyen el pasaje accidental de material genético de una muestra a otra, la presencia de ácidos nucleicos foráneos en reactivos o personal de laboratorio y la contaminación del ambiente por productos de amplificación generados en reacciones previas (amplicones) (7). Éstos representan la principal fuente de contaminación del laboratorio de Biología Molecular debido a su estabilidad y elevada producción en cada reacción.

En el Laboratorio de Biología Molecular de este hospital se procesan alrededor de 8.000 muestras por mes y, siguiendo las recomendaciones dirigidas a los laboratorios clínicos que realizan PCR(3), el sector se encuentra organizado en áreas de trabajo físicamente separadas, donde cada una cuenta con su propio instrumental como ser *vórtex*, centrifugas, pipetas y *tips*. Asimismo, el flujo de trabajo es unidireccional, es decir, desde la zona de “pre-PCR” a la de “post-PCR”. En el área de “pre-PCR” se prepara la

master mix (mezcla que contiene todos los reactivos necesarios para llevar a cabo la amplificación) y es una zona libre de material genético. El área de “post-PCR” es aquella donde se realiza la amplificación de los ácidos nucleicos, por lo que es la región que contiene mayor cantidad de amplicones. Por otro lado, la mayoría de las determinaciones que se realizan en el laboratorio de Biología Molecular son automatizadas y con un sistema cerrado, lo que disminuye la producción de aerosoles y la posible contaminación con amplicones (8). Para degradar los amplicones generados, diariamente se emplea luz UV en las diferentes salas y equipos (9), y para reforzar este proceso en las plataformas de amplificación automatizadas se utiliza el método de descontaminación con Uracil-N-glicosilasas (UNG). De esta manera se disminuye la probabilidad de que amplicones generados en reacciones previas funcionen como nuevos templados (10). Otra medida importante que el laboratorio está implementando desde 2009 es la

realización de un control de contaminación ambiental de forma periódica para sensar la presencia de amplicones en el ambiente de trabajo.

Es importante tener en cuenta que las acciones preventivas anteriormente citadas no garantizan la total ausencia de amplicones contaminantes y que ningún método de descontaminación es totalmente efectivo (7). Por esa razón, el presente trabajo tiene como objetivo demostrar la importancia de la implementación de un control de contaminación ambiental periódico a fin de detectar la presencia de contaminación de forma precoz y así tomar acciones correctivas a tiempo.

Materiales y Métodos

En septiembre de 2016 se llevó a cabo en el laboratorio de Biología Molecular de este hospital, un control ambiental con el fin de detectar posible material genético contaminante.



Análisis Multidisciplinarios de Alta Complejidad de Bahía Blanca para todo el país

- Clínico Humano
- Bromatológico
- Veterinario
- Agronómico
- Bioanalítica
- Industrial y Medio Ambiente



FUL 9003744 - 08207894
Acreditado por N.º 00021

Asociación Laboratorios de Alta Complejidad

Áreas involucradas

En la Figura 1 se detallan los nueve puntos de control correspondientes a las diferentes áreas de trabajo del laboratorio en las que se censó la presencia de amplicones.

Recolección de muestras

Se utilizaron simultáneamente tres hisopos de Dacron previamente humedecidos en agua libre de ADNAsas/ ARNAsas (“agua free”) para la recolección de muestras en cada punto de control. El procedimiento se realizó respetando el flujo de trabajo unidireccional y fue llevado a cabo por un mismo operador en todas las oportunidades para estandarizar la toma de muestra. Los tres hisopos de cada punto de control fueron colocados en tubos Falcon con 1.400 µL de “agua free” y posteriormente se utilizó el *vórtex* para inducir la liberación del material recolectado. Se obtuvo un total de nueve tubos, que luego fueron utilizados para llevar a cabo las reacciones de amplificación.

Amplificación de secuencias

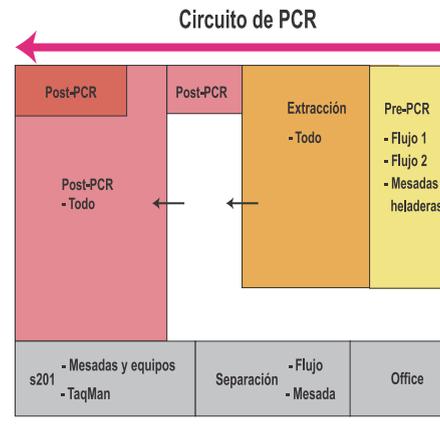
En todas las muestras recolectadas se realizó la búsqueda de amplicones del Virus de la Inmunodeficiencia Humana (HIV), Hepatitis C (HCV) y Hepatitis B (HBV) por PCR en tiempo real (multiplex), empleando la prueba Cobas TaqScreen MPX en la plataforma Ampliprep Cobas s201 de Roche[®]. Asimismo, se estudiaron por PCR en tiempo real los amplicones de Citomegalovirus (CMV), beta globina y Enterococo Vancomicina Resistente (EVR) en LightCycler 2.0 (Roche[®]). Para CMV y beta globina se utilizaron los kits comerciales de TibMolbiolLightMix[®] Kit CMV EC y LightMix[®] Kit Beta Globin Extraction Control, respectivamente. En ambos casos se emplearon además para la preparación de la *master mix* los reactivos de Roche del kit LightCycler[®]FastStart DNA Master HybProbe. Para la determinación de EVR se emplearon los reactivos de LightCycler VRE Detection Kit (Roche[®]).

Las reacciones de amplificación se llevaron a cabo de acuerdo con el protocolo establecido por el fabricante y bajo las mismas condiciones en que se procesan las muestras clínicas. Por lo tanto, se emplearon 1.100 µL de muestra para la técnica

multiplex y 5 µL para CMV, EVR y beta globina, respectivamente. Para la preparación de la *master mix* se utilizaron *primers*, sondas, MgCl₂, enzima Taq polimerasa y agua *free* en las cantidades y concentraciones descritas en el inserto comercial.



Figura 1



Análisis de los resultados

Luego de concluidos los ciclos de amplificación para cada analito, se verificó en los programas de los equipos correspondientes la presencia o ausencia de una curva de amplificación para cada muestra, lo cual permitió discernir los resultados positivos de los negativos respectivamente. Los resultados se organizaron en Tablas y en el caso de los positivos, se registró para cada curva el valor de Cp (*crosspoint*) obtenido. Este valor indica el número de ciclo de la PCR al cual la fluorescencia detectada supera la fluorescencia basal, por lo tanto, se entiende que cuanto menor es el Cp mayor es la carga inicial de la secuencia en estudio.

Resultados

Hallazgos generales

Se observó que en puntos críticos del circuito, como el flujo laminar o la cabina de seguridad del área de pre-PCR no se detectaron amplicones, aunque sí se hallaron en las mesadas y heladeras del área. En el resto del circuito, la distribución de los amplicones fue variable.

El detalle de los resultados obtenidos y los valores de Cp de la PCR para cada

analito en los distintos puntos de control se presentan en la Tabla I.

Medidas correctivas adoptadas

Ante estos resultados, se decidió aplicar las siguientes acciones correctivas:

1. Implementación de un protocolo reforzado de limpieza. El protocolo consiste en utilizar un paño embebido con NaClO al 5% sobre las superficies, luego eliminar sus residuos con agua y finalmente utilizar isopropanol al 70%. A partir de entonces, este procedimiento se realiza de manera complementaria a la limpieza diaria de las superficies, que consiste en el empleo de isopropanol al 70% y la utilización de luz UV en todo el circuito.
2. Reentrenamiento del personal. En el laboratorio no sólo participan los operadores y profesionales de Biología Molecular, sino también el personal de limpieza, por lo que todos fueron debidamente reentrenados en el cumplimiento del circuito de PCR y en la importancia de las buenas prácticas de trabajo.

Un mes después de la implementación de las medidas correctivas, se repitió el control de contaminación ambiental, siguiendo el mismo procedimiento descrito previamente. En este caso se observó la negativización de la mayoría de los amplicones hallados en el primer control, a excepción de los de HIV y beta globina. Sin embargo, estos últimos fueron detectados en concentraciones menores a las iniciales, lo que se reflejó en sus valores de Cp (Tabla II).

Análisis del impacto clínico asociado a la contaminación detectada

A fin de evidenciar si la presencia de contaminación tuvo impacto sobre los resultados clínicos emitidos, se realizó un análisis retrospectivo de los controles negativos que se procesaron en los diez meses previos al inicio del estudio, correspondientes a los seis analitos involucrados. Para HIV, HCV, HBV y EVR no se observó positivización del control negativo durante el período estudiado, pero sí se observó un caso de amplificación del control negativo para CMV y otro para beta globina. En ambos casos se procesaron nuevamente



PORQUE UN DIAGNÓSTICO PRECISO NECESITA RESULTADOS CONFIABLES.

Nuestro laboratorio integral está al servicio del profesional, brindando resultados confiables y asesoramiento en su interpretación, facilitando información precisa para colaborar en el diagnóstico, seguimiento y prevención de las enfermedades.

Nuestro compromiso: brindar un servicio personalizado a través de un equipo de especialistas, cumplir con los más exigentes estándares de calidad, y garantizar confiabilidad y exactitud en los resultados.

- / Biología Molecular
- / Hematología y Hemostasia
- / Microbiología
- / Endocrinología
- / Citometría de Flujo
- / Inmunoserología
- / Química Clínica
- / Virología



Consultar alcance en
www.oaa.org.ar



STAMBOULIAN
LABORATORIO

PLANTA DE LABORATORIO
Av. Scalabrini Ortiz 676

DPTO. COMERCIAL
4858-7061 al 63
laboratorio@stamboulian.com.ar

Centro de Atención Telefónica
2206-6000

www.stamboulian.com.ar

STAMBOULIAN
SERVICIOS DE SALUD

las muestras y los controles, tal como se establece en los procedimientos estandarizados del laboratorio, y se obtuvo la negativización del control negativo, con lo que se pudo validar la corrida.



Tabla I. Detalle de los Cp (crosspoint) obtenidos para cada determinación en los distintos puntos en los que se realizó el control de contaminación ambiental.

Puntos de control de contaminación	HIV (Cp)	HCV (Cp)	HBV (Cp)	CMV (Cp)	EVR (Cp)	β globina (Cp)
Pre PCR						
- Flujo laminar	ND*	ND	ND	ND	ND	ND
- Cabina de seguridad	ND	ND	ND	ND	ND	ND
- Mesadas y heladeras	34,5	ND	ND	34,7	32,9	32,0
Separación de muestras						
- Cabina de seguridad	38,2	39,3	ND	ND	ND	ND
- Mesadas	33,2	ND	ND	ND	ND	ND
Extracción de material genético						
- Mesadas, heladeras y equipos	35,2	ND	41,2	ND	ND	37,5
Banco de sangre						
- Mesadas y equipos	35,6	ND	ND	ND	ND	ND
- Termociclador	32,8	ND	ND	ND	ND	30,8
Post PCR						
- Mesadas, heladeras y equipos	29,6	36,7	ND	33,4	ND	31,1

*ND: No detectable



Tabla II. Resultados obtenidos luego de la descontaminación para cada determinación en los distintos puntos en los que se realizó el control, con sus correspondientes valores de Cp (crosspoint) obtenidos.

Puntos de control de contaminación	HIV (Cp)	HCV (Cp)	HBV (Cp)	CMV (Cp)	EVR (Cp)	β globina (Cp)
Pre PCR						
- Flujo laminar	ND	ND	ND	ND	ND	ND
- Cabina de seguridad	ND	ND	ND	ND	ND	ND
- Mesadas y heladeras	36,1	ND	ND	ND	ND	ND
Separación de muestras						
- Cabina de seguridad	ND	ND	ND	ND	ND	ND
- Mesadas	36,6	ND	ND	ND	ND	ND
Extracción de material genético						
- Mesadas, heladeras y equipos	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Banco de sangre						
- Mesadas y equipos	36,4	ND	ND	ND	ND	ND
- Termociclador	31,0	ND	ND	ND	ND	33,3
Post PCR						
- Mesadas, heladeras y equipos	29,4	ND	ND	ND	ND	37,7

*ND: No detectable

Teniendo en cuenta que a lo largo de los diez meses de estudio se registraron 226 controles negativos para CMV y 243 para beta globina, los controles invalidados por positivización representaron sólo un 0,44% y 0,41% respectivamente, lo cual no se considera un porcentaje significativo. Además, sabiendo que al reprocesar la corrida los controles arrojaron los resultados esperados y los de las muestras fueron coincidentes con los iniciales, se puede inferir que la presencia de amplicones en el Laboratorio no tuvo impacto en los resultados clínicos.

Conservación de la integridad del circuito de pcr tres meses después

Luego de tres meses de realizado el segundo control de contaminación, se llevó a cabo un tercer control para hacer un seguimiento de los analitos que persistieron (HIV y beta globina). Se detectaron secuencias de HIV sólo en el área de post PCR, mientras que beta globina se halló a lo largo del circuito en mesadas y heladeras. Los resultados globales de los tres controles de

contaminación que se realizaron permiten documentar que las medidas correctivas implementadas fueron efectivas para lograr una disminución significativa de los amplicones y que esta situación se mantuvo a lo largo del tiempo (Tabla III).



Tabla III. Resultados globales en Cp (cross point) de las PCR correspondientes a los tres controles de contaminación que se llevaron a cabo. Los valores entre barras representan los resultados del primer, segundo y tercer control para cada amplicón buscado.

Puntos de control de contaminación	HIV (Cp)	HCV (Cp)	HBV (Cp)	CMV (Cp)	EVR (Cp)	β globina (Cp)
Pre PCR						
- Flujo laminar	ND/ND/ND	ND/ND/ND	ND/ND/ND	ND/ND	ND/ND	ND/ND/ND
- Cabina de seguridad	ND/ND/ND	ND/ND/ND	ND/ND/ND	ND/ND	ND/ND	ND/ND/ND
- Mesadas y heladeras	34,5/36,1/ND	ND/ND/ND	ND/ND/ND	34,7/ND	32,9/ND	32,0/ND/37,6
Separación de muestras						
- Cabina de seguridad	38,2/ND/ND	39,3/ND/ND	ND/ND/ND	ND/ND	ND/ND	ND/ND/ND
- Mesadas	33,2/36,6/ND	ND/ND/ND	ND/ND/ND	ND/ND	ND/ND	ND/ND/38,3
Extracción de material genético						
- Mesadas, heladeras y equipos	35,2/ND/ND	ND/ND/ND	41,2/ND/ND	ND/ND	ND/ND	37,5/ND/ND
Banco de sangre						
- Mesadas y equipos	35,6/36,4/ND	ND/ND/ND	ND/ND/ND	ND/ND	ND/ND	ND/ND/ND
- Termociclador	32,8/31,0/ND	ND/ND/ND	ND/ND/ND	ND/ND	ND/ND	30,8/33,3/ND
Post PCR						
- Mesadas, heladeras y equipos	29,6/29,4/33,5	36,7/ND/ND	ND/ND/ND	33,4/ND	ND/ND	ND/ND

*ND: No detectable

Discusión y Conclusiones

Para el aseguramiento de la calidad en el laboratorio de Biología Molecular es fundamental respetar el circuito de PCR y contar con controles de calidad internos (QCI) y externos (QCE). El Laboratorio Central del Hospital Italiano de Buenos Aires incluye dentro de sus QCI un control de contaminación ambiental semestral para sensar la presencia de amplicones. Con el fin de demostrar la importancia de su implementación, se exponen los resultados obtenidos en los últimos tres controles realizados.

El primero de ellos refleja la presencia de amplicones en gran parte de las áreas estudiadas del laboratorio. Si bien no es inesperada su presencia en el área de post PCR, ya que es el sector en el que se llevan a cabo las reacciones de amplificación, sí lo es en el resto de las áreas y especialmente en la sala de pre PCR, donde se evidenció la presencia de cuatro de los seis analitos estudiados.

Los amplicones de HIV fueron los más ampliamente distribuidos a lo largo del circuito, lo que podría deberse a que en el laboratorio se realizan tres determinaciones que llevan a su generación: la determinación cualitativa del genoma del virus, su cuantificación y su genotipificación, que se lleva a cabo manualmente e implica una PCR *nested*.

Los resultados expuestos a partir del segundo control de contaminación evidencian que el refuerzo en los protocolos de limpieza y el reentrenamiento del personal en las buenas prácticas de trabajo, fueron exitosos para disminuir la carga de amplicones en el ambiente. Esto se infiere a partir de la negativización de gran parte de los analitos buscados. Aquellos que persistieron lo hicieron en concentraciones menores a las iniciales, lo que se vio reflejado en el aumento de los valores de "Cp".

- NUEVA PLANTA AUTOMATIZADA -

*Agilidad y eficiencia
diagnóstica*

*Diagnóstico
genético*

*Seguridad y
trazabilidad*

*40 años
de trayectoria*

AVANZAMOS

Con esfuerzo, inversión permanente en tecnología y profesionales con los más altos valores humanos inauguramos nuestra nueva planta automatizada con metodología Lean en sus procesos.

Un laboratorio de vanguardia al servicio de la salud.

Labmedicina
ANÁLISIS CLÍNICOS



CALIDAD ACREDITADA ISO 15189
Alcances en www.oaa.org.ar

www.labmedicina.com

Ante estos resultados, se realizó el análisis retrospectivo de los controles negativos de las determinaciones implicadas para evidenciar si la presencia de contaminación tuvo impacto en los resultados clínicos emitidos. El análisis demostró que los niveles de contaminación presentes no fueron suficientes como para afectar significativamente los resultados de los controles que se realizaron en los últimos diez meses. Por consiguiente, se asegura la confiabilidad de los resultados clínicos emitidos durante ese período. Este hallazgo resulta de importancia, ya que en muchos laboratorios sólo se utiliza como indicador de contaminación la positividad a repetición del control negativo presente en cada corrida. A partir de un control de contaminación periódico es posible anticipar esta situación que suele ser difícilmente reversible.

En este trabajo se propone utilizar el control de contaminación ambiental como Indicador de Calidad para los laboratorios de Biología Molecular. Posee las ventajas de ser un procedimiento sencillo, versátil y de bajo costo relativo. Cada laboratorio deberá evaluar los analitos que serán incluidos en su control y la periodicidad del mismo, según la dinámica de trabajo. En este caso, se realizó la búsqueda de amplicones de HCV debido a que las muestras de personas infectadas con este virus suelen presentar elevada carga viral y además se trata de una determinación que se procesa diariamente junto a las de HIV y HBV en el Banco de Sangre del laboratorio. Como CMV y EVR también tienen la misma frecuencia de procesamiento, ambas determinaciones fueron consideradas en el control ambiental. La betaglobina se incluyó en el estudio, debido a que se utiliza como control de extracción en algunas determinaciones, evidenciando la presencia de material genético. Es una determinación importante en la validación de los resultados negativos, por lo que un resultado falso positivo tendría una gran implicancia diagnóstica.

Es importante tener en cuenta que no se encontraron en la bibliografía consultada límites de contaminación aceptables para los laboratorios que realizan la técnica de PCR, por lo que los presentes resultados no pueden ser contrastados con otros valores. Asimismo, si bien son conocidas las medidas para prevenir la contaminación, no existen protocolos oficiales publicados de

control de contaminación ambiental específicos para laboratorios de Biología Molecular.

Se considera de interés para la comunidad clínica e investigadora que se establezcan valores de corte y pautas para el diseño de estrategias de *screening* que permitan evaluar la presencia de amplicones en el laboratorio.

Implementar un control de contaminación ambiental periódico resulta fundamental para la confiabilidad de los resultados emitidos y, en el caso de los laboratorios clínicos, para garantizar la seguridad del paciente evitando posibles errores en Medicina (11). Asimismo, previene situaciones que podrían llevar a grandes costos, como el reprocesamiento de muestras, descontaminaciones intensivas e incluso, la necesidad de suspender prácticas de laboratorio.

Este trabajo refleja el impacto positivo que generó en el Laboratorio del Hospital Italiano la implementación de este proceso de mejora de la calidad y pretende dar cuenta de la importancia de su utilización en todos los Laboratorios de Biología Molecular.

Agradecimientos

Los autores agradecen al Laboratorio Central del Hospital Italiano, y especialmente al área de Biología Molecular, y quieren hacer un agradecimiento especial a los miembros del Departamento de Investigación, Área de Investigación no patrocinada por su guía y colaboración en la escritura de este proyecto.



Referencias bibliográficas

1. Cruzado GA. Crónica sobre el impacto de la tecnología del ADN en las Ciencias Forenses. Rev UMBRAL [Internet]. 2014; 107–27. Disponible en: http://136.145.223.12/sites/default/files/4_1.pdf. (Fecha de consulta 7 de febrero de 2017).
2. Ordenes JF, Vicencio BO, Urrutia SU. Recomendaciones para laboratorios que realizan la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR): Áreas y flujos de trabajo [Internet]. Chile; 2013. Disponible en: http://www.ispch.cl/docs/RECOMENDACIONES_PARA_LABORATORIOS.PDF3. Aslanzadeh J. Brief review: Preventing PCR amplification carryover contamination in a clinical laboratory. Ann Clin Lab Sci. 2004; 34 (4): 389–96.
4. Mifflin TE. Control of Contamination Associated with PCR and Other Amplification Reactions [Internet]. 1997. Disponible en: <http://www.genequantification.com/mifflinoptimisationreport.pdf> (Fecha de consulta: 31 de enero de 2017).
5. Lo Y, Mehal W, Fleming K. Falsepositive results and the polymerase chain reaction. Lancet 1988; 2: 8612–79.
6. Borst A, Box ATA, Fluit AC. Falsepositive results and contamination in nucleic acid amplification assays: Suggestions for a prevent and destroy strategy. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2004; 23 (4): 289–99.
7. Champlot S, Berthelot C, Pruvost M, Bennett EA, Grange T, Geigl EM. An efficient multistrategy DNA decontamination procedure of PCR reagents for hypersensitive PCR applications. PLoS One 2010; 5 (9): e13042.
8. Wilke WW, Jones RN, Sutton LD. Automation of polymerase chain reaction tests. Reduction of human errors leading to contamination. Diagn Microbiol Infect Dis 1995; 21 (4): 181–5.
9. Niederhauser C, Höfelein C, Wegmüller B, Lüthy J, Candrian U. Reliability of PCR decontamination systems. Genome Research 1994; 4 (2): 117–23.
10. Longo MC, Berninger MS, Hartley JL. Use of uracil DNA glycosylase to control carryover contamination in polymerase chain reactions. Gene 1990; 93 (1): 125–8.
11. Jurado Roger A, Lopez Braos J, Martinez Noguera R, Rodriguez Morales R, de la Peña Carretero L, Romero Sotomayor MV. La gestión por procesos en el laboratorio clínico como herramienta para disminuir los errores preanalíticos. Rev Lab Clin 2012; 5 (2): 57–67.