

Elementos claves para evitar la contaminación en el Laboratorio de Biología Molecular de la provincia Holguín

Key elements to avoid contamination at the Molecular Biology Laboratory in Holguin province

Maicelys Ramírez Zaldívar^{1*} <https://orcid.org/0000-0003-3135-3864>

Dunia Salazar Fernández¹ <https://orcid.org/0000-0002-8352-1551>

Ernesto Carmenates Ricardo^{2*} <https://orcid.org/0000-0003-1700-6372>

Roxana Pérez Pupo¹ <https://orcid.org/0000-0002-1398-3347>

¹Hospital General Universitario Vladimir Ilich Lenin. Holguín, Cuba.

²Centro Provincial de Higiene, Epidemiología y Microbiología. Holguín, Cuba.

* Autores para la correspondencia: maicelys76@gmail.com, e.carmenates95@gmail.com

RESUMEN

Introducción: La técnica de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) es una herramienta diagnóstica altamente específica, pero muy sensible. Su susceptibilidad a la contaminación constituye el principal problema en los laboratorios. Por ello, es urgente conocer las posibles causas de su origen, así como prevenirlas y contar con varios métodos para su eliminación.

Objetivo: Describir los elementos claves para evitar la contaminación en el Laboratorio de Biología Molecular de la provincia Holguín.

Métodos: Se realizó una revisión bibliográfica en la base de datos de Google académico y en artículos relevantes relacionados con el tema. Además, se tomó como referencia las *Orientaciones sobre la bioseguridad en el laboratorio relacionada con la COVID-19* de la Organización Mundial de la Salud, versión 2021.

Información, análisis y síntesis: Se recomienda llevar a cabo una valoración institucional del riesgo para identificar los peligros específicos de cada etapa del proceso: exposición a aerosoles, posibles salpicaduras, derrames de materiales y riesgos químicos relacionados con los reactivos.

Cada etapa debe tener su riesgo evaluado. La prevención de la contaminación de una PCR comienza con la distribución de las zonas, por eso el flujo de trabajo en un laboratorio de biología molecular es solo en una dirección: de pre-PCR a PCR. Además de la aplicación de normas generales, se deben tomar otras medidas de eliminación de riesgos como el control de ingeniería, la eficacia germicida de la luz ultravioleta y el control de la contaminación del laboratorio.

Conclusiones: Evitar la contaminación en el laboratorio de Biología Molecular de la provincia Holguín en el curso de la pandemia de SARS-CoV-2 es de vital importancia en la calidad de los servicios de salud.

Palabras clave: biología molecular; reacción en cadena de la polimerasa; PCR; contaminación.

ABSTRACT

Introduction: The polymerase chain reaction (PCR) technique is a highly specific but very sensitive diagnostic tool. Its susceptibility to contamination is the main problem in laboratories. Therefore, taking into account the possible causes of its origin, preventing it and having several methods for its elimination is of paramount importance.

Objective: To describe the key elements to avoid contamination at the Molecular Biology Laboratory in Holguin province.

Methods: A literature review was conducted in the Google Scholar database and in relevant articles related to the topic. In addition, the Laboratory biosafety guidance related to coronavirus disease (COVID-19) version 2021 was used as a reference.

Information, analysis and synthesis: It is recommended to conduct an institutional risk assessment to identify the specific hazards of each stage of the process: exposure to aerosols, possible splashes, material spills and chemical hazards related to reagents. Preventing contamination of a PCR starts with the layout of the areas, that is why the workflow in a molecular biology laboratory is only in one direction: from pre-PCR to PCR. In addition to the application of general standards, other hazard elimination measures such as engineering control, germicidal efficacy of ultraviolet light, and laboratory contamination control must be taken.

Conclusions: Avoiding contamination in the Molecular Biology Laboratory in Holguin province in the course of the SARS-CoV-2 pandemic is vital for the quality of health services.

Keywords: molecular biology; polymerase chain reaction; PCR; contamination.

Recibido: 26/10/2021

Aceptado: 08/11/2021

Introducción

El estudio de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR, Polymerase Chain Reaction, por sus siglas en inglés) cobra suma importancia en el curso de la pandemia actual de COVID-19. Es una técnica desarrollada por Kary Mullis a mediados de los años 80. Con esta metodología se pueden producir en el laboratorio diversas copias de un fragmento de ácido nucleico específico. Sus únicos requerimientos son la serie de nucleótidos a identificar y una pequeña cadena de ácido desoxirribonucleico que pueda unirse a la molécula que se quiere copiar para que sirva como cebadora o *primer* (en inglés): además como requerimiento es necesario la enzima o las enzimas (en dependencia del tipo de PCR que se va a desarrollar), las sondas en el caso del PCR en tiempo real, iones divalentes como cofactores de la ADN polimerasa que generalmente se utilizan sales de magnesio y una solución tampón para mantener el pH adecuado para el funcionamiento de la polimerasa.

La implementación de esta técnica en el laboratorio es altamente específica y sensible, por lo que requiere un mínimo volumen de muestra para su realización. Debido a esta elevada sensibilidad analítica, el principal riesgo de la PCR es su susceptibilidad a la contaminación, lo que representa un gran problema para los laboratorios que realizan este procedimiento.^(1,2,3,4) En términos generales, la contaminación es la presencia de un componente no deseado de la prueba y es ocasionada frecuentemente por la interacción cruzada de las muestras biológicas que se manipulan durante la etapa de extracción, por la existencia de material genético en los equipos del laboratorio, superficies y reactivos, y la presencia de amplicones como producto final de la preparación de la técnica.^(3,5,6)

Las vías de contaminación más comunes son causadas por la generación de aerosoles a partir de la apertura de tubos que contengan partidores, sondas, ADN molde o amplicones. Los aerosoles son de fácil dispersión y pueden contaminar los materiales y las superficies de trabajo. Otras vías de contaminación la constituyen los derrames que contengan ácidos nucleicos, lo que ocurre

por volcamiento de microtubos o por la disposición de tapas de microtubos y puntas de micropipeta ya usadas sobre las superficies y que dejan residuos contaminantes.^(3,6,7,8)

Ante la inminente necesidad de enfrentar cualquier forma de contaminación y sobre cómo evitarla en caso de que se detecte, el Laboratorio de Biología Molecular debe reconsiderar el uso obligatorio de un manual que enuncie estas vicisitudes: dejando en claro las normas de vestimenta, limpieza y descontaminación, trabajo técnico, empleo de los equipos, preparación de protocolos y reactivos, y definición de las funciones de cada estructura del centro, con la garantía de que se produzca un trabajo de flujo unidireccional.

Por ello, y teniendo en cuenta el riesgo acrecentado por la pandemia de COVID-19, el propósito de este estudio fue describir los elementos claves para evitar la contaminación en el Laboratorio de Biología Molecular de la provincia Holguín.

Métodos

Se realizó una revisión bibliográfica en la base de datos de Google académico y en artículos relevantes relacionados con el tema. Además, se tomó como referencia las *Orientaciones sobre la bioseguridad en el laboratorio relacionada con la COVID-19* de la Organización Mundial de la Salud (OMS), versión 2021.

Información, análisis y síntesis

Una de las claves que aseguran la calidad de trabajo en el Laboratorio de Biología Molecular es evitar la producción de contaminantes. Este punto se rige por normas generales (como la vestimenta, las técnicas de trabajo adecuadas y de descontaminación después de los ensayos) y particulares (de acuerdo con cada uno de los departamentos). Además, se debe realizar controles para verificar la ausencia de contaminación de los reactivos, consumibles y el medio ambiente.

Normas generales

Conforme a las *Orientaciones sobre la bioseguridad relacionada con la COVID-19* de la Organización Mundial de la Salud (OMS), se recomienda llevar a cabo una valoración

institucional del riesgo para identificar los peligros específicos de cada etapa del proceso: exposición a aerosoles, posibles salpicaduras, derrames de materiales y riesgos químicos relacionados con los reactivos. Cada etapa debe tener su riesgo evaluado.

La prevención de la contaminación de una PCR comienza con la distribución de las zonas; y es así como el flujo de trabajo en un laboratorio de biología molecular es solo en una dirección: de pre-PCR a PCR. Los reactivos de la PCR y las muestras deben prepararse siempre en la sala de pre-PCR. Una vez finalizada una amplificación de ácidos nucleicos, en ningún caso deben abrirse o introducirse estos viales de nuevo en la sala de pre-PCR, ya que estos podrían contaminar fácilmente los reactivos, consumibles o equipos de preparación de muestras.^(3,5,7,9,10)

Los consumibles y medios de protección del investigador (batas de laboratorio, guantes, gafas protectoras y botas) deben ser independientes en ambas salas. Es decir, muchos de los materiales deberán estar duplicados para evitar posibles contaminaciones entre departamentos. De tal forma que los operarios, si necesitan regresar a la zona PCR, irán en contra del flujo unidireccional y deberán tener cuidado de no contaminar la sala pre-PCR.⁽¹¹⁾

Para el trabajo en el laboratorio se deben usar prendas de vestir adecuadas, preferiblemente que permitan aislar el 100 % de nuestro cuerpo. Debe usarse zapatos apropiados, completamente cerrados y con suela antideslizante. Las personas con cabello largo deben recogerlo; preferiblemente se debe usar gorro descartable. Las batas o trajes de laboratorio deben ser de manga larga y deben abotonarse completamente para la protección contra la contaminación o los accidentes por la manipulación inadecuada de reactivos. Asimismo, la bata o traje debe quitarse al salir del laboratorio para evitar transferencia de contaminantes en las áreas normalmente limpias o la introducción de contaminantes desde otras áreas al espacio asignado para biología molecular.^(3,6,7,9,12)

La práctica de los principios básicos y procedimientos biológicos minimizan la contaminación institucional y personal. Las actividades como comer, beber, fumar o maquillarse quedan fuera del laboratorio; de la misma manera, el uso de artículos personales como carteras, abrigos o celulares también se excluyen.

Antes de cada labor hay que cerciorarse de que se dispone de los suministros suficientes para trabajar y que estos se almacenaron en un lugar seguro de acuerdo con las instrucciones de conservación, a fin de evitar accidentes como derrames, tropezones, caídas o contaminación.

El lavado de las manos y la desinfección de los guantes y superficies de trabajo antes y después de los manejos críticos de muestras son imprescindibles dentro del laboratorio; se debe tener en cuenta que tanto el SARS-CoV-2, como la mayoría de los agentes patógenos, pueden ser desactivados por desinfectantes con actividad probada contra virus con envoltura, como el hipoclorito al 0,1 % (para la desinfección general de superficies) y al 1 % (para la desinfección de los derrames de muestras). También se pueden emplear etanol al 70 %, povidona yodada al 7,5 %, cloroxilenol al 0,05 %, clorhexidina al 0,05 % y cloruro de benzalconio al 0,1 %, mientras se sigan las recomendaciones del fabricante. Se debe prestar atención no solo a la selección del desinfectante, sino al tiempo de contacto (10 min, por ejemplo), la dilución, el plazo de validez y la fecha de caducidad a partir de la preparación de la solución.⁽⁹⁾

Además, cabe considerar que no deben emplearse guantes que contengan talcos ni manipular tubos o equipos sin estos puestos. Es importante no usar guantes durante periodos prolongados mientras se realizamos una PCR. Si se sospecha que se ha tocado una superficie u objeto contaminado con material contaminante exógeno, estos se deben cambiar enseguida.

Tampoco deben almacenarse en un mismo refrigerador los reactivos libres de ADN molde junto con ácidos nucleicos purificados o con muestras biológicas; los refrigeradores deben encontrarse en el área designada (sucia o limpia) para evitar el traslado de muestras de un lugar a otro dentro del laboratorio.

En cualquier ensayo, una técnica de pipeteo adecuada es fundamental para el rendimiento y la calidad de los resultados, ya que esto minimiza la contaminación entre muestras. Es importante evitar salpicaduras durante la apertura de tubos. Para ello, se recomienda centrifugar los viales antes de ser abiertos, para evitar aerosoles que puedan contener ácidos nucleicos en el medio.

Los tubos centrifugados se deben abrir cuidadosamente (sin tocar la parte interna de la tapa y los tubos), para evitar la contaminación de los guantes y de la superficie.

Debe comprobarse que las puntas para micropipetas usadas en las diferentes áreas tengan filtro para evitar la formación de aerosoles, que evitan la contaminación de estas.^(3,6,9,10,11,12,13,14,15)

También se pronuncian medidas con respecto al flujo del aire ambiental, dado que las diferencias de presión pueden usarse para eliminar los contaminantes entre áreas: presiones más altas se usan en áreas limpias que se encuentren próximas o contiguas a áreas sucias a fin de eliminar las contaminaciones. Mientras el área limpia de preparación de reactivos debe tener una ligera presión positiva (entre 5-20 Pa) sobre la presión existente en el pasillo de conexión

entre áreas, las otras áreas deben tener una ligera presión negativa para ingresar aire desde el exterior y, por ende, prevenir el escape de contaminantes hacia otros lugares del laboratorio. Es necesario, además, que los controladores de presión estén conectados a conductos de escape de aire separados, de forma que cada uno lleve el aire extraído/ingresado a lugares distintos y no exista contaminación por esta vía.^(8,11)

Una consideración muy importante es que los medios apropiados para la eliminación de los desechos y descontaminación, como la autoclave, deben estar cerca del laboratorio.

El Laboratorio de Biología Molecular de Holguín tiene cuatro áreas de trabajo: recepción, área de extracción y purificación, área de preparación de reactivos y área de PCR. Estas deben tener un amplio espacio, con las restricciones de acceso adecuadas, provistas de recursos que deben ser exclusivos de cada área y no intercambiables. Las puertas deben estar identificadas acorde con la función que se desempeña en cada departamento. Los muebles y superficies deben ser lisos e impermeables a los líquidos para facilitar la desinfección. La ventilación del laboratorio con sistemas de refrigeración debe garantizar que el flujo de aire no comprometa la seguridad laboral. Justo en la entrada de cada departamento debe haber pasos podálicos humedecidos con solución clorada.

Recepción

La recepción no solo es un apartamento gerencial del trabajo. Cuando se reciben las muestras, el recepcionista debe encargarse de comprobar que cada muestra se corresponde con los datos de las indicaciones y que es apta para el recibo. Las muestras con derrames, por ejemplo, deben considerarse inapropiadas para su estudio y rechazarse. Por eso, debe pensarse en recipientes con la debida resistencia, integridad y capacidad para contenerlas y conservar la cadena de frío a 4 °C (ideal para que las partículas virales no sean desactivadas).

Además, mientras se confecciona el protocolo, se debe tener cuidado ante las aperturas accidentales y caídas de los medios de transporte virológicos. Asimismo, si no se procesan inmediatamente, deben conservarse bajo refrigeración con la seguridad de que estén en un depósito limpio y de fácil identificación con respecto al resto.^(3,5,6)

Área de extracción y purificación de los ácidos nucleicos

En este espacio se deben realizar las extracciones y purificaciones de ácidos nucleicos que luego serán utilizados como ADN molde para las reacciones de PCR. El almacenamiento de este material debe realizarse en un congelador exclusivo ubicado dentro de este espacio. La extracción se hará en un gabinete de bioseguridad clase II, de forma que el personal que manipule muestras biológicas se mantenga protegido y, al mismo tiempo, se aisle el ADN molde de posibles contaminaciones externas. El equipamiento de esta área es exclusivo y no puede ser usado en otra área del laboratorio. El personal, al ingresar, debe usar delantal y guantes exclusivos de esta área y no puede trasladarlos a otra área del laboratorio.^(4,5,6,7,16,17,18,19,20,21,22,23)

Área de preparación de reactivos (pre-PCR)

El área de preparación de reactivos se define como aquella área limpia donde se utilizan protocolos y equipamientos para preparar las mezclas de reacción que serán empleadas en la PCR (en esta área solo se realiza la mezcla que incluye el tampón de reacción, se emplean dos enzimas: reversotranscriptasa y la DNA-polimerasa, que generalmente la más utilizada es la Taq polimerasa, los dNTPs, el agua y los cebadores).

Todo equipamiento de esta área es exclusivo y no se puede usar en otra área del laboratorio. En este lugar debe existir un congelador de -20°C para almacenar los reactivos utilizados para preparar reacciones de PCR, y nunca mezclarlos con material biológico (extractos de ADN o ARN). Los reactivos de PCR nuevos deben almacenarse en una ubicación diferente, dentro del mismo congelador, con respecto a los reactivos de uso diario (alícuotas), para evitar su posible contaminación.

Esto se puede realizar en una cabina de seguridad biológica. Dentro de esta cabina deben manipularse todos los reactivos para preparar mezclas de PCR. En su interior deben mantenerse las micropipetas, tubos y gradillas de uso diario.^(3,5,9,13)

Área de PCR (carga o dispensación del ADN molde)

En esta área deben dispensarse los ADN moldes a las mezclas de PCR que se han preparado en el área limpia. El personal debe ingresar y utilizar los elementos de protección exclusivos de esta área.

Además, debe contar con cabina de seguridad biológica, micropipetas, gradillas y microcentrífuga de uso exclusivo. Antes de abrir los tubos que contienen el ácido nucleico ADN molde, debe realizarse una breve centrifugación para evitar el escape de aerosoles al abrir el tubo. Una vez adicionado el ácido nucleico ADN molde, se cerrarán herméticamente los tubos y se llevarán a los termocicladores para iniciar la amplificación. Al terminar este proceso, el personal nuevamente debe quitarse guantes, batas desechables y delantal (exclusivos de esta área).^(5,15,16)

Control de ingeniería

Los controles de ingeniería son controles físicos o mecánicos de los equipos de trabajo (cabinas de seguridad biológica, extractor de ácidos nucleicos y termocicladores), que se implementan para eliminar las fuentes de peligro a partir de estos mismos. El uso correcto de los equipos minimiza el riesgo de contaminación.

Las cabinas de seguridad biológica (CSB) forman parte de un grupo de equipos destinados a mejorar las condiciones generales bajo las cuales se realiza una gran variedad de actividades en los laboratorios clínicos y de investigación. Son las que garantizan la existencia de ambientes controlados, indispensables para llevar a cabo actividades que por sus características resultan potencialmente peligrosas, y protegen el estado de los productos de la investigación.

Dado que las CSB se emplean regularmente en procesos que involucran materiales biológicos de alto riesgo o donde el producto de la manipulación de estos contribuye a la contaminación, se deben realizar labores de limpieza antes y al finalizar cualquier procedimiento. Para limpiar, se deben retirar todos los materiales como las pipetas, las cajas de puntas y gradillas, e igualmente a estos se les efectuará una limpieza antes de ser introducidos nuevamente. La cabina será descontaminada por los lados, la parte trasera e interior del vidrio respetando las propiedades del material con que está hecha para evitar corrosiones u oxidaciones de la superficie de trabajo. Se puede usar glutaraldehído, compuestos de amonio cuaternario, alcoholes al 70 % y polihexametilén-guanidina que no son irritantes en las concentraciones que se emplea, tienen efecto residual y no son corrosivos sobre los metales. Los pequeños derrames y salpicaduras pueden ser manejados de forma inmediata con material absorbente colocando los desechos inmediatamente dentro de una bolsa de bioseguridad. El colector de drenaje deberá ser vaciado dentro de un frasco que contenga una solución desinfectante. Para esto se utiliza una

manguera de longitud adecuada que se acopla a la válvula de drenaje y el extremo abierto se sumerge en el vaso colector que contiene la solución desinfectante. Este procedimiento minimiza la generación de aerosoles.^(17,18,19)

La tecnología de los purificadores de ácidos nucleicos está automatizada y permite un procesamiento de alta velocidad y calidad sin contaminación cruzada entre las muestras o el arrastre del reactivo. El alto rendimiento, la extracción rápida y el diseño modular pueden satisfacer una variedad de necesidades con una sola unidad. Por ello, también debe velarse por el mantenimiento y descontaminación de estos. A pesar de que usualmente cuentan con un sistema interno de descontaminación mediante luz ultravioleta, debe usarse además soluciones desinfectantes indicadas por el fabricante.⁽²⁰⁾

Los termocicladores que se emplean para llevar a cabo PCR en tiempo real detectan la fluorescencia que se produce como resultado de la amplificación. Estos equipos pueden realizar la amplificación del PCR y el monitoreo de la fluorescencia en tiempo real de cada tubo simultáneamente. La limpieza y mantenimiento de estos aseguran una calidad del trabajo final y contra la contaminación.

Se debe apagar y desconectar el equipo antes de limpiarlo, emplear soluciones limpiadoras recomendadas por el fabricante y no utilizar líquidos dentro de los pocillos de reacción ni al interior del equipo.

Para asegurar este requisito la superficie se debe limpiar periódicamente con un paño suave y libre de pelusas, humedecido con agua. De ser necesario, se usará una solución de etanol al 70 % para eliminar la suciedad.

El polvo o cualquier otra impureza que caiga dentro de los pocillos de reacción pueden interferir la detección de la señal fluorescente. Se utilizará el pincel soplador suministrado por el fabricante para limpiar los pocillos de reacción cada 3 meses. Cuando el equipo no se usa, se colocará la cubierta guardapolvo suministrada por el fabricante. Si cae polvo o alguna partícula dentro de los pocillos de reacción, estos se limpiarán con un paño suave y libre de pelusas humedecido con una solución de etanol al 70 %.⁽²¹⁾

Después de una corrida quedan muchos productos de amplificación en los tubos, de los cuales hay que deshacerse lo más rápidamente posible. No abra los tubos del PCR porque ello puede originar una contaminación del laboratorio.

Eficacia germicida de la luz ultravioleta

La radiación ultravioleta (UV) es una radiación de espectro luminoso con longitudes de onda entre 100-400 nm. La radiación se puede clasificar en UV-A, UV-B y UV-C. Esta última destruye la capacidad reproductiva de los microorganismos debido a los cambios fotoquímicos en los ácidos nucleicos y, en menor medida, actúan sobre ciertas proteínas. Por tanto, ofrece una alternativa eficiente en la limpieza del aire y la eliminación de dichas partículas, disminuyendo la probabilidad de exposición a las personas que transitan un espacio y minimizan las contaminaciones de la PCR como producto de la circulación ambiental del virus. En ciencias biomédicas, existe una diferencia sutil en la franja de UVC, respecto a las clasificaciones astrocientífica y convencional. La UVC se clasifica en dos subgrupos: lejana (UVC-L) comprendida entre 207-222 nm y germicida (UVC-G) de 254-265 nm.

La radiación UV actúa en el genoma produciendo alteraciones moleculares por medio de fotoproductos formados a partir de pirimidinas, siendo los más frecuentes, en su orden, los dímeros de ciclobutano pirimidina y la 6-4 pirimidina pirimidona. También se producen especies reactivas de oxígeno que contribuyen al estrés oxidativo de las moléculas. El daño inducido en el genoma de un patógeno (como el coronavirus) provocará efectos mutagénicos capaces de inhibir sus mecanismos replicativos.

Las lámparas UV con acción germicida son las que poseen una longitud de onda de 254 nm. La potencia recomendada para lámparas del techo es de 55 W, con lo que se puede instalar una lámpara a cada 5 m² (que vendría siendo una por departamento). Se debe emplear luego de aplicar solución desinfectante sobre las superficies, durante 15 min al menos. Teniendo en cuenta el microorganismo objetivo y para que la esterilización sea efectiva son necesarios varios factores como energía requerida (J/cm²) y tiempo necesario para inactivar al microorganismo, la longitud de onda de la lámpara, la distancia de la fuente UV-C hasta el virus, la capacidad real de emisión de la lámpara, la vida útil de la lámpara y la limpieza de la superficie (la luz debe alcanzar al microorganismo). Pese a sus limitaciones puede ser un excelente método complementario para la inactivación del virus de la COVID-19.

No obstante, se advierten riesgos como el daño sobre la epidermis y la córnea, y alteraciones de los ácidos nucleicos de todos los sistemas biológicos, con lo que la fotoqueratitis (el daño más documentado), eritemas y quemaduras de piel, y afecciones malignas como cáncer (producto de la exposición excesiva) son las complicaciones más frecuentes. Por seguridad no se debe mirar

directamente la luz UV aún con protección, no se debe ingresar en departamentos donde esté encendida la lámpara UV, no se debe emplear para esterilizar manos, piel o ropas, en lo posible conectar las lámparas con un sensor de movimiento, de manera que apaguen automáticamente si alguien ingresa bajo su luz, y siempre colocar un cartel indicativo de que la luz UV-C se encuentra prendida y un breve resumen del riesgo.

La implementación de un esquema de irradiación UV (UVC-L o UVC-G) en espacios cerrados requiere definir el tamaño de la sala, la disponibilidad de un detector de potencia UV, el arreglo geométrico de las lámparas y la dosis de inactivación. La finalidad siempre será encontrar el tiempo de irradiación que inactiva al patógeno, en este caso, el nuevo coronavirus.^(22,23)

Control de la contaminación del laboratorio

El control del ambiente del laboratorio consiste en la evacuación de contaminantes; exige, en principio, dos actuaciones bien diferenciadas: la retirada de contaminantes y la renovación del aire. Cualquier proceso o tarea susceptible de liberar contaminantes debe ser tratado convenientemente con el fin de que no afecten la atmósfera de trabajo o lo hagan en el mínimo grado posible. El recurso eficaz para eliminar la contaminación química o biológica generada por la actividad del laboratorio es la extracción localizada.

Una buena técnica es incluir controles positivos y negativos para asegurar que el proceso de extracción y amplificación se haya realizado correctamente, y verificar la presencia de contaminantes en los reactivos, consumibles y el medioambiente.^(5,7,10)

Conclusiones

La mayoría de los autores aseveran que el flujo unidireccional del trabajo interno, las normas de vestimenta, la aplicación de soluciones desinfectantes antes y después de cada trabajo y otras particularidades, minimizan la contaminación. Debe quedar resuelto la adecuada estructura de la edificación y los suministros suficientes para el desarrollo del trabajo cumpliendo con las buenas prácticas de laboratorio. La revisión responde a las dificultades diarias del laboratorio de Biología Molecular de la provincia Holguín con respecto al tema, lo cual constituye un material de investigación y actualización constante.

Referencias bibliográficas

1. Rodríguez M, Rodríguez W. PCR en tiempo real. Métodos químicos-físicos en Biotecnología. IBT-UNAM. 2006 [acceso 05/10/2021]. p. 55. Disponible en línea: http://www.ibt.unam.mx/computo/pdfs/met/realtime_pcr.pdf
2. Nolan T, Huggett J, Sanchez E. Good practice guide for the application of quantitative PCR. Gene-Quantification; 2013 [acceso 05/10/2021]. Disponible en: <https://www.gene-quantification.de/national-measurement-system-qpcr-guide.pdf>
3. Quillen A, Garbarello MF, Otarola EM, Nardi MA, Frecha CA, Furci A, *et al.* Aseguramiento de calidad en el laboratorio de biología molecular: control de contaminación ambiental. Acta Bioquím Clín Latinoam. 2018 [acceso 05/10/2021];52(2):205-11. Disponible en: http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0325-29572018000200005&lng=es
4. Maj G, Suhaib A. Quality Control in Diagnostic PCR. Genetic Resource Centre. 2014 [acceso 05/10/2021]. Disponible en: <http://grecpk.com/wp-content/uploads/2014/10/11.-Quality-Control-in-PCR.pdf>
5. Ordenes JF, Urrutia SU. Recomendaciones para los laboratorios que realizan la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR): áreas y flujo de trabajo. Santiago de Chile: Departamento Laboratorio Biomédico Nacional y de Referencia; 2017.
6. Sepúlveda CAG, Cherpitel DEN, Astorga JRA. Manual de bioseguridad para laboratorios de investigación biomédica. LGVH - Home. Universidad Autónoma de San Luis Potosí; 2012 [acceso 05/10/2021]. Disponible en: <http://www.genomica.uaslp.mx/Protocolos/Bioseguridad/MBLIB-v5.pdf>
7. U.S. EPA Office of Ground Water and Drinking Water. Quality Assurance/Quality Control Guidance for Laboratories Performing PCR Analyses on Environmental Samples. U.S. Environmental Protection Agency. 2006 [acceso 05/10/2021]. Disponible en: <https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-07/documents/epa-qaqc-pcr.pdf>
8. Instituto Nacional de Seguridad y Salud en el Trabajo. NTP 373: La ventilación general en el laboratorio. Instituto Nacional de Seguridad y Salud en el Trabajo, Gobierno de España, Ministerio de Trabajo y Economía Social; 1999 [acceso 12/08/2021]. Disponible en: https://www.insst.es/documents/94886/326827/ntp_373.pdf/7ae7590d-4f37-45f4-a168-a5e9c52343b2

9. OMS. Orientaciones sobre la bioseguridad en el laboratorio relacionada con la COVID-19. Repositorio institucional para compartir información. OMS; 2021 [acceso 15/08/2021]. Disponible en: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/339696/WHO-WPE-GIH-2021.1-spa.pdf>
10. Pelt-Verkuil E, Belkum A, Hays JP. Ensuring PCR Quality. Laboratory Organisation, PCR Optimization and Controls. In: Principles and technical aspects of PCR amplification. Cap. 10. Dordrecht: Springer; 2008. p. 183-212.
11. Thermo Fisher Scientific Inc. Real-time PCR. Thermo Fisher Scientific - US. 2021 [acceso 05/08/2021]. Disponible en: <https://www.thermofisher.com/us/en/home/life-science/pcr/real-time-pcr.html>
12. Equipo de Soporte de BioFire Diagnostics, Inc. Contamination prevention and decontamination technical note. Biomerieux. 2017 [acceso 10/08/2021]. Disponible en: <https://docs.biofire.com/wp-content/uploads/2017/09/FLM1-PRT-0230-02-Contamination-Prevention-and-Decontamination-Technical-Note.pdf>
13. Labclinics.com. Seis trucos para evitar la contaminación de una PCR. Labclinics.com. 2019 [acceso 12/08/2021]. Disponible en: <https://www.labclinics.com/2019/07/22/seis-trucos-para-evitar-la-contaminacion-de-una-pcr/>
14. Asuar LE. Guía Práctica sobre la técnica PCR. CUPDF. 2016 [acceso 05/08/2021]. Disponible en: <https://cupdf.com/document/guia-practica-sobre-la-tecnica-pcr.html?page=1>
15. Rubio VGG, Rodríguez M del RS. Manual de prácticas. Virología. UAEM Amecameca. Centro Universitario; 2020 [acceso 12/08/2021]. Disponible en: <https://www.uaemex.mx/images/pdf/Diplomado.pdf>
16. QIAGEN®, QIAamp®, artus® (QIAGEN Group), ABI PRISM® (Applied Biosystems), LightCycler® (Roche Group), Rotor-Gene™ (Corbett Research). Technical note for the identification, prevention, and elimination of DNA and RNA contaminations (Decontamination Guideline). Technical note - QIAGEN. 2006 [acceso 10/08/2021]. Disponible en: <https://www.qiagen.com/us/resources/download.aspx?id=f6c8c89b-5dca-4433-9dea-2d205d016b56&lang=en>
17. OMS. Manual de bioseguridad en el laboratorio. 3.^a ed. Ginebra: Organización Mundial de la Salud; 2005.

18. Aiassa V, Alovero F, Becerra MC. Antisépticos, desinfectantes y COVID-19. Repositorio Institucional CONICET Digital. CONICET. 2020 [acceso 10/08/2021];85. Disponible en: https://ri.conicet.gov.ar/bitstream/handle/11336/141141/CONICET_Digital_Nro.83ca5dc5-afd2-48b7-ade8-d718b3df21c4_A.pdf?sequence=2
19. Bouam A, Vincent JJ, Drancourt M, Raoult D, Levy PY. Preventing contamination of PCR - based multiplex assays including the use of a dedicated biosafety cabinet. Letters in Applied Microbiology. 2021;72(1):98-103.
20. Biomiga.com. Allsheng AutoPure 96. Biomiga. 2021 [acceso 15/08/2021]. Disponible en: <https://biomiga.com/shop/product-category/covid-testing-products/automation-system/allsheng-autopure-96/>
21. Centro de Inmunoensayo. Manual de usuario del sistema PCR en tiempo real SLAN®-96P Versión 8.2.2. La Habana; 2020.
22. Costa JDA CC. Uso adecuado de lámparas germicidas. Consejo Argentino de Oftalmología. 2020 [acceso 15/08/2021]. Disponible en: <https://oftalmologos.org.ar/files/institucional/covid/uso-adecuado-de-lamparas-germicidas.pdf>
23. Visbal JHW, Barros JJB, Hernández JCM. Luz ultravioleta C: una alternativa eficiente contra la pandemia. Bol Malariol Salud Ambient. 2021;61(1):3-10.

Conflicto de interés

Los autores declaran que no existen conflicto de intereses.

Contribuciones de los autores

Conceptualización: Maicelys Ramírez Zaldívar, Dunia Salazar Fernández.

Metodología: Maicelys Ramírez Zaldívar, Dunia Salazar Fernández.

Redacción - borrador original: Maicelys Ramírez Zaldívar.

Redacción - revisión y edición: Maicelys Ramírez Zaldívar, Ernesto Carmenates Ricardo, Dunia Salazar Fernández, Roxana Pérez Pupo.