

## AVALIAÇÃO DE UM PROTOCOLO DE CONTROLE DE CONTAMINAÇÃO AMBIENTAL COMO REQUISITO PARA GARANTIA DA QUALIDADE EM UM LABORATÓRIO DE BIOLOGIA MOLECULAR

EVALUATION OF AN ENVIRONMENTAL CONTAMINATION CONTROL PROTOCOL AS A REQUIREMENT FOR QUALITY ASSURANCE IN A MOLECULAR BIOLOGY LABORATORY

Nina Rocha Dutra<sup>1</sup>  
Izabel Laíza de Oliveira Costa Bispo<sup>2</sup>  
Afrânio Côgo Destefani<sup>3</sup>

**RESUMO:** Os laboratórios clínicos de análises moleculares são grandes aliados nas práticas de saúde, principalmente no mundo atual pós-pandemia de COVID-19, participando da assistência não só ao diagnóstico como também ao acompanhamento do estado de saúde dos indivíduos. Nesses laboratórios desenvolvem-se metodologias de análise primordialmente de ácidos nucleicos e, dentre essas, a reação em cadeia da polimerase em tempo real (RT-PCR) tem grande destaque por sua enorme versatilidade, sensibilidade e especificidade. Porém, possui um importante ponto de fragilidade: a facilidade com que pode sofrer contaminações com produtos de amplificação (“amplicons”) de reações anteriores realizadas no mesmo espaço ambiental, ou ainda com material genético proveniente de outras amostras, calibradores e controles. A presença indesejada dessas moléculas de DNA/RNA tem grande potencial para impactar negativamente em todo um *workflow* de trabalho no laboratório de Biologia Molecular e, portanto, deve ser corretamente monitorada e protocolos para evitar que aconteça devem fazer parte das boas práticas de funcionamento desse tipo de atividade. Diante disso, o presente trabalho terá como objetivo principal demonstrar a importância da implementação de um controle de contaminação ambiental periódico em todo o *workflow* técnico de um laboratório de Biologia Molecular (LBM).

3419

**Palavras-chave:** RT-PCR. Amplicons. Contaminação ambiental. Garantia da qualidade.

<sup>1</sup>Farmacêutica Bioquímica pela Universidade Federal de Juiz de Fora, Minas Gerais. Mestre em Biologia Celular e Estrutural pela Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais. Especialista em Análises Clínicas pela Universidade Federal de Juiz de Fora, Minas Gerais. Especialista em Biologia Molecular e Genética Laboratorial pela Faculdade Pio XII, Cariacica, Espírito Santo. Responsável Técnica Laboratório de Biologia Molecular do Hospital Márcio Cunha, Fundação São Francisco Xavier, Ipatinga, Minas Gerais. <http://lattes.cnpq.br/0736837605452273>.

<sup>2</sup>Biomédica pela Faculdade Multivix, Cachoeiro de Itapemirim, Espírito Santo. Pós-graduada em Docência do Ensino Superior e Gestão pela Faculdade Multivix, Cachoeiro de Itapemirim, Espírito Santo e em Gestão Hospitalar e Auditoria em Serviços de Saúde pela Faculdade Estratego, Belém, Pará. Especialista em Biologia Molecular e Genética Laboratorial pela Faculdade Pio XII, Cariacica, Espírito Santo. Analista de Laboratório Biologia Molecular Central Sorológica de Vitória. <http://lattes.cnpq.br/2083982737721304>.

<sup>3</sup>Farmacêutico pela Escola Superior de Ciências da Santa Casa de Misericórdia de Vitória, Espírito Santo. Mestre e Doutor em Biotecnologia pela Universidade Federal do Espírito Santo. Especialista em Biologia Celular e Citologia Clínica pela Universidade Federal do Espírito Santo. Especialista em Bioquímica pela Escola Superior de Ciências da Santa Casa de Misericórdia de Vitória, Espírito Santo. Docente da Faculdade Pio XII, Cariacica, Espírito Santo e da Escola Superior de Ciências da Santa Casa de Misericórdia de Vitória, Espírito Santo. <http://lattes.cnpq.br/3484043118107703>.

**ABSTRACT:** Clinical laboratories that perform molecular diagnostic tests are great allies in healthcare practices, especially in the current post-COVID-19 pandemic world scenario, participating in assistance not only with diagnosis but also in monitoring the health status on individuals. In such laboratories analytical methodologies are developed primarily for nucleic acids and, among these, the real-time polymerase chain reaction (RT-PCR) stands out due to its enormous versatility, sensitivity and specificity. However, it has an important fragility: the easiness with which it can be contaminated with amplification products (“amplicons”) from previous reactions carried out in the same environmental space or even with genetic materials from other samples, calibrators and controls. The unwanted presence of these DNA/RNA molecules has great potential to negatively impact the entire workflow in a Molecular Biology Laboratory and, therefore, must be correctly monitored with protocols to prevent it from happening. Such protocols must be part of the laboratory good practices standards. Given this, the main objective of this present study is to demonstrate the importance of implementing periodic environmental contamination control protocol throughout the entire technical workflow of a Molecular Biology Laboratory (MBL).

**Keywords:** RT-PCR. Amplicons. Environmental contamination. Quality assurance.

## INTRODUÇÃO

Os Laboratórios de Biologia Molecular (LBM) funcionam amplamente com o uso da metodologia da reação em cadeia da polimerase (sigla inglesa *PCR*) e suas variantes. Uma das mais difundidas e versáteis é a PCR em tempo real (RT-PCR ou qPCR), que, em relação à PCR convencional, tem a vantagem de permitir o acompanhamento da amplificação do ácido nucleico da amostra durante a própria reação, através do uso de sondas específicas para o alvo estudado marcadas com fluoróforos, eliminando a etapa posterior de revelação da reação. Permite também realizar a quantificação do ácido nucleico de interesse na amostra quando utilizadas soluções calibradoras com concentrações conhecidas do analito. A técnica possui alta especificidade e alta sensibilidade, e requer quantidades muito pequenas de amostra para ser realizada. Por todas essas características, a metodologia de RT-PCR é atualmente uma das mais empregadas nos laboratórios de biologia molecular em todo o mundo (12).

Entretanto, exatamente por essa alta sensibilidade, a metodologia de RT-PCR é muito suscetível à contaminação. Na Biologia Molecular, contaminação se define como a presença indesejada de moléculas de DNA e/ou RNA no ambiente de trabalho, que podem vir a prejudicar as reações em curso atuando como *templates* de amplificação (8). As diferentes fontes de contaminação das reações de RT-PCR já descritas incluem a passagem acidental de material genético de uma amostra para outra, ou de colaboradores mal paramentados para as

amostras, a presença de moléculas DNA/RNA contaminantes em reagentes ou ainda a presença no ambiente de trabalho de produtos de amplificação (*amplicons*) gerados em reações prévias (sendo que esse último representa a principal fonte de contaminação ambiental de um laboratório de biologia molecular devido a sua estabilidade e elevada produção em cada reação). (7) Tudo isso pode levar a necessidade de repetições de procedimentos, com seus consequentes custos econômicos e assistenciais, e até derivar em problemas diagnósticos como a liberação de possíveis resultados “falso-positivos”. (11)

Muito embora a contaminação ambiental possa ser um fenômeno subestimado, já em 1988 foi reportado pela primeira vez um resultado “falso-positivo” para a detecção do genoma do HBV (vírus da hepatite B) em uma amostra biológica em função dessa problemática. A partir de então, muitos estudos foram realizados no sentido de tentar descrever melhor esse fenômeno, com o intuito de elevar os níveis de garantia de qualidade no laboratório e de segurança na produção de laudos laboratoriais. (4) Em adição a isso, quando se trata do diagnóstico molecular de uma doença que não está em momento de alta incidência, contaminações e resultados “falso-positivos” podem ser facilmente reconhecidos e manejados usando repetição de teste e/ou análises confirmatórias de resultados, e as fontes de contaminação podem ser determinadas com mais tranquilidade. Porém, quando estamos lidando com o diagnóstico de doenças em momento de alta incidência (como ocorreu e ainda ocorre na pandemia do COVID-19), ou ainda em situações de emergência, com um grande número de amostras a serem testadas, análises complementares acabam por consumir muito tempo e reagentes, frequentemente sendo inviabilizadas. (13)

3421

Com o objetivo de garantir as melhores condições de manipulação nas técnicas moleculares laboratoriais, as diretrizes sanitárias vigentes preconizam que um laboratório de biologia molecular estruture-se sempre em áreas fisicamente distintas, cada uma contando com seu instrumental e insumos específicos, denominadas áreas de “pré-PCR” e “pós-PCR”, sendo o fluxo de trabalho sempre unidirecional, no sentido da 1ª para a 2ª, e nunca o contrário. (15) Na área de “pré-PCR” preparam-se os *master mixes* de reação de RT-PCR, bem como se realizam as reações de extração de ácidos nucleicos das amostras a serem analisadas e se preparam as reações de amplificação em placas ou em tubos que serão logo em seguida vedados. Na área de “pós-PCR” acontecerão de fato as reações de amplificação em

equipamentos termocicladores, e é a área mais sujeita a contaminação por *amplicons*. Para minimizar esse efeito, recomenda-se o uso de equipamentos automatizados, com sistemas fechados, que irão controlar a produção de aerossóis de *amplicons*. Além disso, deve também haver procedimento para limpeza adequada de superfícies contaminadas com ácidos nucleicos e produtos previamente amplificados. (15) Para a descontaminação de superfícies e bancadas, recomenda-se a exposição por 10 minutos a de álcool etílico a 70% (as aplicações devem ser feitas friccionando a solução sobre a superfície e deixando secar, repetindo o processo por três vezes). Pode-se também utilizar solução de hipoclorito a 1%, pelo mesmo tempo de exposição. (6) (14)

É importante salientar que embora as determinações sanitárias vigentes preconizam que os laboratórios de biologia molecular tenham processos procedimentados de limpeza e descontaminação de superfícies, bancadas e equipamentos, as ações exigidas nem sempre garantem a total ausência de produtos de amplificação contaminantes, e também que nenhum método de descontaminação ambiental é totalmente efetivo. (7) Dessa maneira, cabe aos laboratórios definir as melhores práticas corretivas e, principalmente, preventivas, para mitigar ao máximo o risco de prejuízo da qualidade de suas atividades e produtos gerados pelos mesmos, sempre visando otimização de custos, mão-de-obra e assistência ao paciente.

3422

## JUSTIFICATIVA

Este trabalho foi realizado no Laboratório de Biologia Molecular do Hospital Márcio Cunha, pertencente à Fundação São Francisco Xavier, em Ipatinga, Minas Gerais, onde são processadas uma média de 3.000 amostras/mês, podendo ultrapassar o triplo desse número em épocas de grande demanda, como nos casos de picos de incidência de COVID-19 na região onde se localiza. Seguindo as recomendações exigidas pelas autoridades sanitárias para o funcionamento desse tipo de laboratório, possui o seu fluxo interno de trabalho (*workflow*) dirigido sempre de maneira unidirecional, dividindo-se em “área pré-PCR” e “área pós-PCR”, e seguindo medidas básicas de descontaminação a cada rodada de análises realizadas para a proteção tanto dos colaboradores quanto da integridade das amostras analisadas. Entretanto, é

importante salientar que nenhum método de descontaminação do ambiente é 100% efetivo, ou seja, por si só não são capazes de garantir a total ausência de *amplicons* contaminantes na área técnica do laboratório. A contaminação do fluxo de trabalho com essas moléculas pode gerar perda de reagentes, controles e calibradores, retrabalho por parte dos colaboradores, gastos aumentados em função da necessidade de repetições de análise, perda de prazos na entrega de laudos gerando insatisfação dos clientes e/ou impacto assistencial negativo no manejo clínico de pacientes e, como consequência mais grave, a produção de laudos laboratoriais “falso-positivos” para um determinado analito. por essa razão, justifica-se a realização do estudo para a implementação de um protocolo periódico preventivo para controle de contaminação ambiental no Laboratório de Biologia Molecular como um dos requisitos para garantir a qualidade dos exames produzidos pelo mesmo, visando os benefícios a serem gerados pela redução de custos para a instituição, bem como pela otimização da contribuição do laboratório para o manejo clínico do paciente.

## DESENVOLVIMENTO

### Diagnóstico inicial do estado de contaminação ambiental do Laboratório de Biologia Molecular (LBM)

3423

Foram identificados 8 pontos de críticos no circuito de trabalho do LBM, onde amostras foram colhidas usando *swabs* de haste plástica e ponta tipo Dacron umedecidos com água ultra-pura livre de DNase/RNase posteriormente acondicionados em tubos estéreis hermeticamente fechados contendo 1 mL de salina estéril. Estes pontos foram: na *área de pré-PCR* (1=fluxo laminar da cabine de segurança biológica, 2=cabine de segurança, 3=bancadas de triagem, 4=freezer de reagentes, 5=bancadas de extração, 6=maçaneta da porta de passagem) e *área de pós-PCR* (7=bancada de termocicladores, 8=superfície de equipamentos).

Após a coleta, essas amostras passaram pelo fluxo de trabalho do LBM e foram analisadas para a presença de material nucleico relacionado ao vírus SARS-CoV-2. Importante esclarecer que a escolha pelo *amplicon* do SARS-CoV-2 como indicador de contaminação ambiental se deu pelo seu maior volume de demanda e processamento de amostras em realção a outros agentes neste LBM, configurando, portanto, o alvo com maior chance de produção de contaminação ambiental. A extração de ácidos nucléicos de todas as

amostras colhidas foi realizada de forma automatizada usando o kit MagPure RNA kit, marca HybriBio®, no equipamento de extração HBNP-4801A, marca HybriBio®. A reação de amplificação em tempo real (RT-PCR) para SARS-CoV-2 foi performada através do kit EasyNAT Diagnostic Kit for SARS-CoV-2 RNA (PCR-Fluorescent Probe Assay), marca USTAR®, no equipamento termociclador Linegene 9600 Plus Thermocycler, marca HybriBio®, de acordo com o procedimento já estabelecido para a análise de amostras biológicas neste LBM, seguindo os mesmos padrões de manipulação. Foi pesquisada a presença dos alvos genéticos virais E e RdRp do vírus SARS-CoV-2, bem como o alvo  $\beta$ -actina como forma de controle interno de reação. Controles positivos e negativos foram analisados simultaneamente às amostras para a validação das análises.

Após as análises das amostras, os resultados obtidos foram dispostos em planilha onde se descrevem os valores de Ct (*cycle threshold*) obtidos para cada alvo de cada amostra. (Figura 1). A obtenção de valores de Ct detectáveis (presença de curva de amplificação) foi considerada como evidência da presença de *amplicons* contaminantes no referido ponto de coleta.

Pré-protocolo de descontaminação				
Amostras	Data da coleta/análise	Resultados		
		Ct E	Ct RdRp	CI ( $\beta$ -actina)
Fluxo laminar	07/08/2023	*	*	*
Interior cabine de segurança	07/08/2023	16,96	19,41	*
Bancada triagem + computadores	07/08/2023	*	*	38,6
Freezer de reagentes (interno/externo)	07/08/2023	*	*	39,73
Bancada extração	07/08/2023	*	*	*
Maçaneta porta de passagem	07/08/2023	18,5	23,81	*
Bancada termocicladores	07/08/2023	*	*	39,08
Termocicladores	07/08/2023	*	*	*
CONTROLE POSITIVO	07/08/2023	27,93	28,35	26,87
CONTROLE NEGATIVO	07/08/2023	*	*	*

\*Não houve amplificação detectável do alvo analisado.

Extração:	MagPure RNA kit (HybriBio). Lote Y20220801A. Validade 31/12/2023.
Amplificação:	Diagnostic Kit for Novel-Coronavirus (2019-nCoV) RNA (PCR-Fluorescent Probe Assay) (HybriBio). Lote 20230119. Validade 18/01/2024.

Figura 1. Valores de Ct (*cycle threshold*) obtidos das análises das amostras ambientais previamente à implantação do protocolo corretivo/preventivo de descontaminação ambiental.

### Aplicação de medidas corretivas e implementação de protocolo de controle de contaminação ambiental no Laboratório de Biologia Molecular (LBM)

Após a detecção dos pontos de contaminação, protocolo de medidas corretivas/preventivas para descontaminação ambiental foi adotado. Antes de iniciar-se a rotina do dia subsequente, realizou-se o procedimento avançado de descontaminação de todo o ambiente do circuito de manipulação de RT-PCR, utilizando para tanto compressa absorvente de uso hospitalar em algodão embebida com álcool etílico a 70%, friccionando todas as superfícies críticas. Esse procedimento foi realizado em triplicata, sempre substituindo as compressas e esperando que o álcool secasse entre uma passagem e outra. Em seguida, uma nova compressa embebida com solução de hipoclorito a 1% foi utilizada para friccionar novamente as mesmas superfícies, deixando a solução em contato com as superfícies por 10 minutos. Finalmente, o excesso de produto ao final do procedimento foi removido com nova compressa absorvente e só então o LBM foi liberado para o trabalho. 3425

A equipe técnica do Laboratório de Biologia Molecular foi treinada para que esse para a realização diária do protocolo de descontaminação corretivo/preventivo, registrando a atividade em formulário próprio para evidência da atividade (Figura 2). De maneira complementar, além do processo acima descrito, também foi realizada a descontaminação das cabines de segurança utilizando luz ultra-violeta por 15 minutos antes e depois de cada uso.

**CONTROLE DIÁRIO DE DESCONTAMINAÇÃO DE SUPERFÍCIES  
SETOR DE BIOLOGIA MOLECULAR HMC I**

MÊS/ANO: SETEMBRO/2023

DIA	HORA	RESPONSÁVEL	ÁLCOOL 70%	HIPOCLORITO 1%	OBS
01					
02					
03					
04					
05					
06					
07					
08					
09					
10					
11					
12					
13					
14					
15					
16					
17					
18					
19					
20					
21					
22					
23					
24					
25					
26					
27					
28					
29					
30					
31					

3426

**Instruções:** Friccionar todas as superfícies do circuito de RT-PCR como se segue, utilizando compressa embebida com:

- Solução de álcool 70%: friccionar as superfícies e aguardar secar. Repetir o processo mais 2x (processo em triplicata).
- Solução de hipoclorito 1%: friccionar as superfícies e deixar agir por 10 minutos.
- Remover o excesso com compressa seca. O ambiente então estará liberado para o trabalho.

Classificação da informação: ( ) Confidencial ( ) Restrita (x) Uso Interno ( ) Pública  
Grupo de acesso: DH CO DIAG

Figura 2. Formulário padrão utilizado para o registro das atividades periódicas de realização do protocolo corretivo/preventivo de descontaminação ambiental no Laboratório de Biologia Molecular.

### **Análise de aderência e impacto do protocolo implantado no Laboratório de Biologia Molecular após período pré-determinado**

Estipulou-se o prazo de 30 dias para a realização diária do protocolo proposto e, findado esse período, foi verificado o formulário de registro diário da realização do protocolo



preventivo proposto para verificação da aderência ao mesmo pela equipe técnica do LBM. Foi convencionado que o mesmo seria considerado satisfatório apenas se houvesse 100% de registros realizados em todas as ocasiões em que a realização do protocolo foi esperada. O resultado da análise de aderência foi considerado satisfatório, uma vez que os registros diários da realização das atividades foram realizados de maneira esperada (em 100% dos dias propostos).

Em seguida, novo diagnóstico de contaminação ambiental do LBM foi realizado, utilizando o mesmo procedimento já relatado anteriormente para o diagnóstico inicial. Os resultados das análises das amostras nesse novo diagnóstico são evidenciados abaixo e serão discutidos adiante (Figura 3).

Pós-protocolo de descontaminação				
Amostras	Data da coleta/análise	Resultados		
		Ct E	Ct RdRp	CI (βactina)
Fluxo laminar	12/09/2023	*	*	*
Interior cabine de segurança	12/09/2023	*	*	*
Bancada triagem + computadores	12/09/2023	*	*	35,25
Freezer de reagentes (interno/externo)	12/09/2023	*	*	*
Bancada extração	12/09/2023	*	*	*
Maçaneta porta de passagem	12/09/2023	*	*	35,25
Bancada termocicladores	12/09/2023	*	*	36,94
Termocicladores	12/09/2023	*	*	*
CONTROLE POSITIVO	12/09/2023	*	*	*
CONTROLE NEGATIVO	12/09/2023	*	*	*

3427

\*Não houve amplificação detectável do alvo analisado.

Extração:	MagPure Nucleic Acid kit (HybriBio). Lote B230101A. Validade 03/01/2024.
Amplificação:	Diagnostic Kit for Novel-Coronavirus (2019-nCoV) RNA (PCR-Fluorescent Probe Assay) (HybriBio). Lote 20230119. Validade 18/01/2024.

Figura 3. Valores de Ct (cycle threshold) obtidos das análises das amostras ambientais posteriormente à implantação do protocolo corretivo/preventivo de descontaminação ambiental.

## CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS

Os resultados evidenciaram que a implementação do protocolo corretivo/preventivo de controle de contaminação ambiental proposto produziu impacto positivo e que o mesmo foi efetivo na redução desta contaminação em todo o circuito de trabalho de RT-PCR no Laboratório de Biologia Molecular. Após a adoção da prática, não foram mais observados pontos de contaminação ambiental (não houve amplificação dos alvos E e RdRp do SARS-CoV-2, adotados como indicadores da presença de *amplicons* e material viral contaminantes). A amplificação pontual de alvos de controle interno  $\beta$ -actina em altos valores de Ct, pressupondo baixa carga gênica na amostra relacionada, pode ser explicada pela presença de células humanas provenientes dos próprios laboratoristas no contato com superfícies de trabalho durante as o desenvolvimento de suas atividades.

A gestão de qualidade nos laboratórios de análises clínicas, assim como nos LBM, desempenha um papel fundamental na garantia da confiabilidade e precisão dos resultados dos exames laboratoriais. A qualidade é uma preocupação primordial nesse contexto, pois os resultados dos testes de laboratório são frequentemente usados para auxiliar no diagnóstico, monitoramento e tratamento de doenças.

Além disso, a gestão de qualidade inclui a adoção de políticas e procedimentos adequados, como a documentação detalhada dos processos laboratoriais, o treinamento contínuo dos funcionários, a manutenção de registros adequados e a garantia da rastreabilidade dos resultados. Também é essencial estabelecer critérios de aceitação para os resultados dos exames e implementar medidas corretivas e preventivas em caso de desvios ou não conformidades. Também requer uma abordagem sistemática de melhoria contínua de seus processos. Isso envolve a análise regular dos mesmo, a identificação de pontos de melhoria, a implementação de ações corretivas/preventivas e a avaliação dos resultados dessas ações. A participação ativa dos funcionários e o envolvimento da administração são essenciais para promover uma cultura de qualidade e garantir a conformidade com os requisitos regulatórios.

Com a obtenção dos resultados favoráveis produzidos por esse estudo e conscientização de toda a equipe técnica do LBM, foi proposta a criação do indicador de

qualidade laboratorial “índice de contaminação ambiental”. Para tanto, o procedimento geral de funcionamento do LBM foi atualizado incluindo a realização do protocolo de descontaminação proposto com periodicidade semanal, com registro em formulário próprio para a comprovação da atividade realizada. Esse protocolo será realizado de maneira complementar às atividades diárias já realizadas de descontaminação, que incluem a passagem de compressa hospitalar absorvente de algodão embebida em álcool etílico 70% duas vezes ao dia em todas as superfícies do laboratório e descontaminação de cabines de segurança utilizando luz ultra-violeta por 15 minutos antes e depois de cada uso. A perspectiva é a de controle efetivo de contaminação ambiental de todo o fluxo de trabalho do LBM, que será evidenciado pela análise das taxas de repetição de análises no LBM (necessárias em caso de suspeita de contaminação das reações de RT-PCR).

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Amigo Q, Garbarello MF, Otarola EM, Nardi MA, Frecha CA, Furci A, Oyhamburu J. Aseguramiento de Calidad en el Laboratorio de Biología Molecular: Control de Contaminación Ambiental. *Acta bioquím. clín. latinoam. La Plata*, v. 52, n. 2, p. 205-211, jun. 2018 .Disponível em:<[http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0325-29572018000200005](http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0325-29572018000200005)>. Acesso em: 14 fev. 2023.
2. Becker MG, Selow MLC, Toniolo RMM. A Importância Do Controle De Qualidade Em Laboratórios Clínicos. *Revista Dom Acadêmico*. Disponível em:<<https://www.unidombosco.edu.br/revistas/index.php/domacademico/article/view/21/22>>. Acesso em: 8 jul.2023.
3. Berlits FA . Controle da qualidade no laboratório clínico: alinhando melhoria de processos, confiabilidade e segurança do paciente. Disponível: <<https://www.scielo.br/j/jbpml/a/4WDGyv4yhv8fWnKXLVGnZRD/?format=pdf&lang=pt>>. Acesso em: 8 jul. 2023.
4. Borst A, Box ATA, Fluit AC. False-positive results and contamination in nucleic acid amplification assays: Suggestions for a prevent and destroy strategy. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases* 2004; 23 (4): 289-99.
5. BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Nota técnica gvims/ggtes/anvisa nº 04/2020 Orientações para serviços de saúde: Medidas de prevenção e controle que devem

ser adotadas durante a assistência aos casos suspeitos ou confirmados de Covid-19: Atualizada em 08/09/2022.

Disponível em: <<https://ameci.org.br/wp-content/uploads/2022/09/NT042020covid1908.09.2022paraportal3.pdf>>. Acesso em: 15 set. 2023.

6. BRASIL. Ministério da Saúde. Coordenação de Controle de Infecção Hospitalar. Processamento de Artigos e Superfícies em Estabelecimentos de Saúde. 2ª edição. Brasília. 1994.

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. Lo Y, Mehal W, Fleming K. False-positive results and the polymerase chain reaction. Lancet 1988; 2: 8612-79.

9. Martelli, A. Gestão da Qualidade em Laboratórios de Análises Clínicas. Journal of Health Sciences. Disponível em: 3430 <<https://journalhealthscience.pgskroton.com.br/article/view/1097>>. Acesso em: 5 jul. 2023.

10. Martinelli, F. Biossegurança laboratorial na pandemia do SARS-CoV-2. Revista Brasileira de Análises Clínicas - SBAC. Disponível em: <[https://www.researchgate.net/profile/LianeRotta2/publication/347283532\\_Insuficiencia\\_renal\\_aguda\\_em\\_pacientes\\_com\\_COVID-19/links/6100bb2b1e95fe241a919d7b/Insuficiencia-renal-agudaempacientescomCOVID19.pdf?\\_sg%5B0%5D=started\\_experiment\\_milestone&origin=journalDetail&\\_rtd=e30%3D#page=6](https://www.researchgate.net/profile/LianeRotta2/publication/347283532_Insuficiencia_renal_aguda_em_pacientes_com_COVID-19/links/6100bb2b1e95fe241a919d7b/Insuficiencia-renal-agudaempacientescomCOVID19.pdf?_sg%5B0%5D=started_experiment_milestone&origin=journalDetail&_rtd=e30%3D#page=6)>. Acesso em: 09 jul. 2023.

11. Mifflin TE. Control of Contamination Associated with PCR and Other Amplification Reactions [Internet]. 1997. Disponível em: <http://www.gene-quantification.com/mifflin-optimisation-report.pdf>. Acesso em: 09 jul. 2023.

12. 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](http://www.ispch.cl/docs/RECOMENDACIONES_PARA_LABORATORIOS.PDF3), Aslanzadeh. Annals of Clinical & Laboratory Science. 2004; 34 (4): 389-96.

13. Renevey N, Thur B. Outbreak investigation: how to prevent laboratory contamination during high-throughput testing. *Revue Scientifique et Technique*. 2018 Dec;37(3):843-856. Disponível em:<<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30964463/>>. Acesso em: 14 fev. 2023.
14. Saldanha HAB, Santiago CR, Palacios RR. SARS-CoV-2: Desafios na reconversão de laboratórios de diagnóstico para combater a pandemia. Disponível em:<[https://journals.asm.org/doi/10.1128/spectrum.0147722?url\\_ver=Z39.88-2003&rfr\\_id=ori:rid:crossref.org&rfr\\_dat=cr\\_pub%20%20pubmed](https://journals.asm.org/doi/10.1128/spectrum.0147722?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori:rid:crossref.org&rfr_dat=cr_pub%20%20pubmed)>. Acesso em: 14 fev. 2023.
15. Sociedade Brasileira de Patologia Clínica / Medicina Laboratorial (SBPC/ML). Programa de Acreditação em Laboratórios Clínicos. Lista de Orientação em Diagnóstico Molecular – Segunda versão – 2018.