

中低风险地区新冠病毒环境采样分析

汤兆明 陶明荣* 覃海莲

广西桂林中国人民解放军联勤保障部队第九二四医院检验科 广西 桂林 541000

【摘要】：目的：定期检测分子实验室环境及物体表面的新型冠状病毒污染情况，杜绝因环境和物品污染而导致实验室交叉感染或实验室污染。**方法：**定期对实验室环境、物体表面、仪器设备进行采样监测。根据监测结果对被污染的实验室环境以及设备进行彻底消毒并通过实验室方法确认污染的消除。**结果：**通过定期彻底清洁、消毒，新冠核酸检测实验室污染渐渐消除。**结论：**对新冠实验室定期进行环境监测，能够及时发现核酸污染源，及时通除，最终通过实验确认核酸污染的清除，实验室环境可正常进行新冠病毒核酸物理化学消毒方法得到有效防治，从而保证新冠病毒核酸检测结果的准确性。**【关键词】：**新型冠状病毒；环境采样；实验室污染

Environmental Sampling Analysis of COVID-19 in Middle and Low Risk Areas

Zhaoming Tang Mingrong Tao* Hailian Qin

Guilin Guangxi Laboratory Department of the 924th Hospital of the Joint Service Support Force of the Chinese People's Liberation Army Guangxi Guilin 541000

Abstract: Objective: To detect the contamination of novel coronavirus in molecular laboratory environment and object surface on a regular basis, so as to prevent laboratory cross infection or laboratory contamination caused by environmental and object pollution. Methods: The laboratory environment, object surface, instruments and equipment were sampled and monitored regularly. The contaminated laboratory environment and equipment shall be thoroughly disinfected based on the monitoring results and the elimination of contamination shall be confirmed by laboratory methods. Results: Through regular thorough cleaning and disinfection, the contamination of the COVID-19 testing laboratory gradually eliminated the detection. Conclusion: Regular environmental monitoring of COVID-19 laboratories can discover and remove nucleic acid pollution sources in time, and finally confirm the removal of nucleic acid pollution through experiments. The laboratory environment can be effectively prevented by normal physical and chemical disinfection of COVID-19 nucleic acid, so as to ensure the accuracy of COVID-19 nucleic acid detection results.

Keywords: COVID-19; Environmental sampling; Laboratory contamination

新型冠状病毒肺炎 (Corona Virus Disease 2019, COVID-19), 简称“新冠肺炎”, 世界卫生组织命名为“2019 冠状病毒病”, 是指 2019 新型冠状病毒感染导致的肺炎。2019 年 12 月以来, 湖北省武汉市部分医院陆续发现了多例有华南海鲜市场暴露史的不明原因肺炎病例, 证实为 2019 新型冠状病毒感染引起的急性呼吸道传染病。随后相继有吉林省、香港、广西百色、广西北海、上海、台湾等多地区爆发过疫情, 截止 2022 年 7 月国内已有确诊病例 4964889 例, 累计死亡 23164 人。目前来说临床上使用最广泛和技术较成熟的新冠核酸检测方法是实时荧光逆转录聚合酶链反应 (RT-PCR), RT-PCR 检测 SARS-CoV-2 核酸过程中将 RNA 逆转录为 cDNA, 以 cDNA 为模板进行扩增, 通过荧光染料或荧光标记的特异性的探针, 对 PCR 产物进行跟踪并进行产物分析^[1]。尽管 PCR 技术有很多的优点, 但是由于其超高的灵敏度, 一旦出现实验室核酸污染, 很容易导致假阳性结果, 影响检测的准确性^[2]。发生核酸污染后需要第一时间查找污染源和污染原因, 明确原因后才能采取有效的去污染措施。定期检测分子实验室环境及物体表面的新型冠状病毒污染情况, 杜绝因环境和物品污染而导致实验室交叉感染或实验室污染。

1 材料与方法

1.1 实验室概况

新冠实验室为负压实验室, 实验区分为试剂准备区、

核酸提取区、扩增分析区 3 个区, 各区之间试剂、样本等以相应的传递窗单向传递, 另外还有样本接收区和消毒区等。

1.2 实验材料

西安天隆科技有限公司天隆 NP968C 提取仪、西安天隆科技有限公司天隆提取试剂、广州中山达安扩增试剂、美国 ABI QuantStudio Dx 荧光定量 PCR 以及一次性采样管及采样拭子

1.3 采样原则

同一间房间的物体合并采集作为一件混合样本, 但是采集的物体数量不多于 10 个, 当单物品采集的区域较多时, 可另增采集管。可能存在潜在污染的物体都需进行采样, 同一房间采样时应先采集相对洁净区域放入同一根混采管, 后采集污染区域放入另外一管。采样要求详见表 1。

表 1 采样要求

采样种类	采样部位	采样面积
电脑	鼠标, 键盘选择回车键、删除键、空格键	每个按键部位均匀涂抹
门把手	与人接触的表面	表面部位均匀涂抹
对讲机	与人接触的表面	抹采样

冰箱	把手及内外壁	小面积的物质选择与人接触的表面部位均匀涂抹采样, 面积较大的物质采用多点分布式采样, 将其分为 3-5 个采样区域, 每个采样区域面积为 10cm ²
空调	出风口的挡板、过滤网	
垃圾桶	脚踩部位、前盖周围	
台面	操作台面	
地面	主要接触的地方	
传递窗	把手、内外壁	
生物安全柜	内外壁及按键	
核酸提取仪	内外壁、开关及操作界面	
加样枪	支加样枪的表面及吸样柱	
振荡器	按钮	
迷你离心机	按钮及内外壁	
高压灭菌锅	内腔及外壁、操作界面	
其他	包括凳子、样本架子等	

1.4 编号

根据新冠病毒核酸检测环境采样方案编号规则编号, 样本信息详见表 2。

表 2 样本信息

样本编号	采样房间	采样种类
1	缓冲区 1	门把手、桌面、对讲机、空调
2		地面、垃圾桶、凳子
3	试剂制备区	加样枪、冰箱、门把手、传递窗、桌面、对讲机、空调
4		地面、垃圾桶、水池
5	缓冲区 2	对讲机、门把手、空调
6		地面、垃圾桶
7	样本准备区	加样枪、生物安全柜、核酸提取仪、传递窗、迷你离心机、振荡器、空调
8		凳子、门把手、冰箱、桌面、地面、对讲机、垃圾桶
9	缓冲区 3	对讲机、门把手、高压灭菌锅、
10		地面、垃圾桶
11	扩增区	门把手、电脑、桌面、空调
12		凳子、地面、垃圾桶

1.5 采样方法

国务院应对新型冠状病毒肺炎疫情联防联控机制综合组·农贸市场(集贸市场)新型冠状病毒环境检测技术规范^[3]推荐的方法: 采样拭子充分浸润病毒保存液后在表面重复涂抹, 将拭子放回采样管浸润, 取出后再次涂抹采样, 重复 3 次以上。对表面较大的物体进行多点分布式采样。

1.6 检测方法

取标本 200 微升加于天隆提取试剂, 用天隆 NP968C 提取仪提取, 完成提取后取 5 微升提取标本加于 20 微升达安扩增试剂。用生理盐水作为空白对照, 中山达安作为阴性质控, 广州邦德胜作为阳性质控。最后将处理好的标本置于 ABI QS Dx 实时荧光 PCR 仪扩增。

2 结果

2021 年 12 月—2022 年 5 月监测结果每月一次, 总共 6 次。见表 3。

表 3 监测结果(次)

样本编号	检测结果(次)					
	ORF1ab		N		内标	
	有	无	有	无	有	无
1	0	6	0	6	2	4

2	0	6	0	6	1	5
2	0	6	0	6	2	4
4	0	6	0	6	3	3
5	0	6	0	6	2	4
6	0	6	0	6	1	5
7	0	6	0	6	0	6
8	0	6	0	6	0	6
9	0	6	0	6	1	5
10	0	6	0	6	3	3
11	0	6	0	6	2	4
12	0	6	0	6	1	5

3 讨论

本实验室在连续 6 个月监测中没有 ORF1ab、及 N 基因污染, 主要原因有: (1) 在低风险区, 因新冠核酸检测靶基因阳性率很低; (2) 无论是怎样的实验室设置, 尽可能实施空气通风来消除 SARS-CoV-2 气溶胶是防污染的最佳手段^[4]。在实验后通过通风来降低、稀释气溶胶浓度; (3) 应用不同消毒方法清除新型冠状病毒核酸污染^[5], 比如每天新配的含氯消毒剂、紫外灯、可移动紫外车、核酸去除剂等^[6]; (4) 使用专用移液器来加阳性质控品, 避免因操作失误造成假阳性结果、使用商品化包装枪头、使用小包装八连扩增管、加质控品前后擦拭生物安全柜台面、勤换手套等。

在低风险区, 因新冠核酸检测靶基因阳性率很低, 因此对于实验室污染的监测, 监测内标基因污染就显得尤为重要。新冠实验室的污染重在预防, 而且内标基因污染更为常见且容易被临床实验室忽略。实验室不仅要制定科学合理的实验室相关制度、程序、操作规程, 而且要做到定期对实验室进行监控, 尤其是对潜在污染区的管理, 及时发现和清除污染, 保证实验室的检测质量^[7]。

对于实验室内标基因污染做到: 实验室空气每次实验结束后紫外线照射 2h, 勤通风。工作地面、台面每天试验后使用 0.2% 含氯消毒剂或 75% 酒精进行台面、地面清洁。垃圾桶及垃圾袋应喷洒 0.2% 含氯消毒剂。生物安全柜每天试验后用

75% 酒精对试管架、实验台面、移液器进行擦拭, 紫外照射 30min。转运容器转运及存放标本的容器使用前后用 0.2% 含氯消毒剂或 75% 酒精擦拭或喷洒。核酸提取仪每天实验结束后紫外线照射至少 30min^[7]。同时定期对新冠核算检测人员进行预防核酸污染培训, 能够及时发现核酸污染源, 及时通过物理化学消毒方法得到有效防治, 从而保证新冠病毒核酸检测结果的准确性。对于后期的持续性改进, 首先缩小环境检测间隔时间, 逐渐减少检测间隔时间尽量做到每半个月, 争取做到每周甚至每天实验前进行一次环境采样; 其次做到监测的面更广, 最后做好每次监

测后的结果分析总结。

参考文献:

- [1] Ji T, Liu Z, Wang G, et al. Detection of COVID-19: A review of the current literature and future perspectives[J]. Biosens Bioelectron, 2020, 166: 112455.
- [2] Aslanzadeh J. Preventing PCR amplification carryover contamination in a clinical laboratory[J]. Ann Clin Lab Sci, 2004, 34(4): 389-396.
- [3] 国务院应对新型冠状病毒肺炎疫情联防联控机制综合组. 农贸(集贸)市场新型冠状病毒环境监测技术规范 [J]. 2020.
- [4] Gehrke S G, Förderer C, Weiskirchen R, et al. Cold traps as reliable devices for quantitative determination of SARS-CoV-2 load in aerosols[J]. Environ Monit Assess, 2021, 193(12): 778
- [5] 安超, 施嘉楠, 何瑞芬, 等. 应用不同消毒方法清除新型冠状病毒核酸污染的效果观察 [J]. 西安交通大学学报(医学版), 2022(002): 043.
- [6] 安超, 施嘉楠, 何瑞芬, 等. 应用不同消毒方法清除新型冠状病毒核酸污染的效果观察 [J]. 西安交通大学学报(医学版), 2022(002): 043.
- [7] 段植, 王琴, 张浩, 周强. 新冠病毒核酸检测实验室核酸污染监测及排除中国血液流变学志. 2021; 31(4): 553-557
- [8] 上海市临床检验中心肖艳群新冠病毒核酸检测实验室存在问题及解决对策
- [9] 联防联控机制综发(2022) 71 号新型冠状病毒肺炎防控方案(第九版)