

新型冠状病毒实验室检测质量管理研究

王 迪

(常州市武进区疾病预防控制中心 江苏 常州 213100)

摘要: 随着疫情在全世界范围内的传播, 新冠病毒的检测对实验室的环境、实验室人员的能力都需要较高的要求。而实验室作为新冠病毒感染标本最集中的区域, 其特殊的操作流程需要综合考虑生物安全性, 同时保证实验室的检测质量与报告的及时性。

关键词: 新冠病毒; 质量控制; 生物安全

2019 新型冠状病毒 (2019-nCoV/SARS-CoV-2, 以下简称新冠病毒) 属于冠状病毒科, β 冠状病毒属, 是一种单股正链 RNA 病毒。SARS-CoV-2 对紫外线和热敏感, 在 56℃ 加热 30 分钟即可失活, 对乙醚、75% 乙醇、氯、过氧乙酸和氯仿等脂溶性消毒剂敏感, 但氯已定不能有效灭活病毒^[1]。国家卫健委 15 日发布《新型冠状病毒肺炎诊疗方案 (试行第八版)》, 其中明确, 新型冠状病毒核酸检测阳性为确诊的首要标准^[2]。由于新冠病毒为新发病毒, 人群普遍易感, 在核酸检测过程中的各个环节中存在较多需要注意的问题。本人围绕目前新冠病毒核酸检测中的关键环节、生物安全、月度质控等进行实验室评述。

1. 新冠病毒核酸检测方法及注意事项

1.1 新型冠状病毒感染的基因组是单股正链 RNA, 进行扩增时需将 RNA 转变成 DNA, 然后进行 DNA 的扩增, 即为 RT-PCR, 目前实时荧光 RT-PCR 是新冠病毒检测使用最为普遍的方法。根据新型冠状病毒肺炎实验室检测技术指南 (第六版) 核酸检测方法主要针对新型冠状病毒基因组中开放读码框 1ab 和核壳蛋白 N^[3]。

1.2 实验室新冠病毒核酸检测可为新冠的诊断提供直接证据, 更加需要严格要求, 规范操作, 注意实验过程中的操作细节。从试剂的准备来说, 从冰箱冷冻取出的试剂一定要混匀离心, 如果试剂融化后没有混匀, 这时候取出的试剂不是均一的, 会影响后面的扩增。用于新冠检测的标本应尽快进行检测, 24 小时内能检测的标本可置于 4℃ 保存, 24 小时内无法检测的标本则应置于 -70℃ 或以下保存^[4]。

1.3 现核酸提取使用较多的方法为磁珠分离法盒离心柱分离法。本实验室采用磁珠分离法提取核酸。核酸提取是检测结果精密度的保证, 提取使用的标本量和检测过程应按照试剂说明书进行, 因为这些因素都可能对核酸的提取成功与否产生影响。同时在提取仪器使用过程中应严格按照要求进行设备的清洁与维护, 避免造成批次内和批次间的污染, 并在提取过程中采用 3 个空白对照随机放于样本中参与提取过程以监控可能发生的环境污染。每次实验后用 75% 的酒精湿巾擦拭提取仪的工作台面, 严禁用酒精擦拭机器的有机玻璃部分。

1.4 根据试剂说明书设置核酸扩增的实验程序, 确保时间、温度、循环数等设置正确。定量 PCR 预混液跟核酸提取物一定要混匀, 尽量避免发生光学混匀的现象, 还有上机的反应体系里尽量不要有大的气泡, 有气泡容易形成折射干扰荧光采集, 可以采用八连管和 96 孔板离心机离心去除气泡, 最后, 在加完试剂上机前, 一定要检查是否已经密封完全, 防止试剂的蒸发, 导致实验室核酸的污染与实验的失败。

(2) 新型冠状病毒实验室的生物安全

2021 年 4 月 15 日。中华人民共和国生物安全法正式生效。

随着病毒检测工作量与日俱增, 实验室是感染性标本最集中的区域, 其操作环境具有一定的生物危害性, 加强和普及生物安全只是对每一位实验员都至关重要, 进一步规范生物安全的管理, 保障实验室

工作的正常进行。根据目前掌握的新冠病毒的生物学特点、流行病学特征、致病性、临床表现等信息, 该病原体暂按病原微生物危害程度分类中第二类病原微生物进行管理。

随着对新冠病毒研究的深入, 合理正确使用 PPE 可以减少实验人员过度防护中带来的不适和恐惧的心理, 应该把更多的关注点放在实验人员操作的合理性和规范化程度, 以及对生物安全柜、核酸提取仪等实验仪器的正确规范的使用来保证实验室的生物安全性。

(3) 质量控制

实验室工作质量的保证应覆盖整个核酸检测的流程的各个环节, 室内质量控制和室间质量控制都是质量保证的重要部分。为了监测新冠核酸扩增检测的分析中环节, 即核酸的提取、扩增和产物检测, 实验室应采取质量控制方法和步骤, 为了监测更大范围的实验活动如结果分析和解释, 并客观比较本实验室检测结果与其他实验室的差异性, 实验室则需常态化参加室间质量评价/能力验证^[5]。

本实验室采用室内质控品和日常临床标本同时检测的方法来判定批次检测标本的检测结果是否在控。每批检测设立 1 份弱阳性质控品 (第三方质控品), 1 份空白对照品 (生理盐水), 1 份阴性对照, 弱阳性质控品与空白对照品放于样本中间参与提取过程。弱阳性质控品定为阳性, 两个阴性质控全部测定为阴性, 视为在控, 反之则为失控, 应立即分析原因, 必要时重新检测样品^[6]。除此之外, 也要考虑实验室管理的多种要素, 人员操作规范、机器日常维护和保养、标本的质量、使用耗材和试剂等都有可能出现问题, 要全方位考虑失控原因。

(4) 结论

核酸检测结果是确诊新冠病毒的金标准, 从事核酸检测的实验室必须有严格的实验室管理体系, 实验室的质量保证要覆盖到整个检测的流程, 从而保证实验室检测结果的准确性和及时性。

随着国家研究团队对新冠的深入研究, 更灵敏的核酸检测方法如数字 PCR 也开始应用于新冠病毒的核酸检测, 同时探索更加高效的实验室诊断方法, 有望在新冠病毒的实验室检测方面大大提高检测效率, 降低实验室的时间成本与耗材成本。

参考文献

- [1] 国家卫生健康委和中医药局 《新型冠状病毒肺炎诊疗方案 (试行第七版修订版)》
- [2] 国家卫生健康委和中医药局 《新型冠状病毒肺炎诊疗方案 (试行第八版修订版)》
- [3][4] 新型冠状病毒肺炎实验室检测技术指南 (第六版)
- [5] 国务院应对新型冠状病毒肺炎疫情联防联控机制综合组. 关于进一步做好疫情期间新冠病毒检测有关工作的通知. 联防联控机制综发 (2020) 152 号
- [6] 中华人民共和国卫生健康委员会. 国家卫生健康委办公厅关于医疗机构开展新型冠状病毒核酸检测有关要求的通知. 国卫办医函 [2020] 53 号