

# 荧光聚合酶链反应法用于新型冠状病毒核酸检测 扩增产物污染治理的相关应用

闫晓枫 李庆伟 孙宇强 荣维娜

作者单位: 150036 黑龙江哈尔滨, 黑龙江省医院实验诊断部

通信作者: 闫晓枫, Email: xiaofeng\_yan2008@126.com

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7151.2023.04.009

**【摘要】** **目的** 探讨荧光聚合酶链反应(PCR)法用于新型冠状病毒(新冠病毒)核酸检测时扩增产物污染治理的相关应用。**方法** 建立新冠病毒基因检测扩增产物污染模型、物面污染模型以及空间(气溶胶)污染模型,比较不同化学试剂及物理紫外线照射治理方式对物面污染和空间污染的清除效果。**结果** 75%乙醇消毒剂组、核酸清除剂组和不同浓度有效氯制剂组的循环阈值(CT值)均明显高于对照组,其中核酸清除剂组的CT值最高,玻璃、塑料、金属材质的CT值分别为 $34.74 \pm 2.63$ 、 $34.68 \pm 3.25$ 、 $35.71 \pm 3.07$ 。500、1 000、1 500、2 000、2 500 mg/L有效氯制剂组对不同材质的CT值均高于75%乙醇消毒剂组,且有效氯的浓度越高,CT值越大,差异均有统计学意义。不同时长紫外线照射各组的CT值均明显高于对照组;其中以紫外线照射120 min组的CT值最高,玻璃、塑料、金属材质的CT值分别为 $35.51 \pm 2.70$ 、 $35.49 \pm 2.63$ 、 $35.55 \pm 2.58$ ,且紫外线照射时长越长,CT值越大,差异均有统计学意义。治理后的通风+紫外线照射120 min+75%乙醇消毒剂+核酸清除剂+2 500 mg/L有效氯制剂组的CT值为 $36.98 \pm 3.47$ ,明显高于治理前及其他各组,差异均有统计学意义。**结论** 荧光PCR法用于新冠核酸检测时扩增产物污染的治理方式较多,对物面污染的治理方式可选择核酸清除剂及2 500 mg/L有效氯制剂,以及紫外线照射120 min,对空间污染环境的治理方式可选择通风+紫外线照射120 min+75%乙醇消毒剂+核酸清除剂+2 500 mg/L有效氯制剂联合应用,值得重视。

**【关键词】** 聚合酶链反应; 新型冠状病毒; 核酸检测; 扩增产物; 污染治理

**基金项目:** 黑龙江省卫生健康委科研课题(20211111000166)

## Related application on pollution treatment of amplification products in novel coronavirus nucleic acid detection by real-time polymerase chain reaction

Yan Xiaofeng, Li Qingwei, Sun Yuqiang, Rong Weina. Department of Experimental Diagnosis, Heilongjiang Provincial Hospital, Haerbin 150036, Heilongjiang, China.

Corresponding author: Yan Xiaofeng, Email: xiaofeng\_yan2008@126.com

**【Abstract】** **Objective** To explore the related application of fluorescent polymerase chain reaction (PCR) in the treatment of amplification product pollution in detection of novel coronavirus (SARS-CoV-2) nucleic acid. **Methods** The models of SARS-CoV-2 gene detection amplification products pollution, physical surface pollution and space (aerosol) pollution were established to compare the removal effects of different chemical reagents and physical ultraviolet (UV) radiation treatments on physical surface pollution and space pollution. **Results** The circulation threshold (CT) value of 75% ethanol disinfectant group, nucleic acid scavenger group and different concentration of effective chlorine preparation groups were higher than that in control group, and the CT values of nucleic acid scavenger group were the highest, with CT values for glass, plastic and metal materials of  $34.74 \pm 2.63$ ,  $34.68 \pm 3.25$  and  $35.71 \pm 3.07$ , respectively. The CT values of different materials in 500, 1 000, 1 500, 2 000 and 2 500 mg/L effective chlorine formulation groups were higher than those in 75% ethanol disinfectant group, and the higher the concentration of effective chlorine, the greater the CT values, with statistically significant differences. The CT values of each group exposed to long-term UV radiation at different time were higher than those of control group, and among them, the CT values of 120 minute UV irradiation group were the highest, with the CT values for glass, plastic and metal materials of  $35.51 \pm 2.70$ ,  $35.49 \pm 2.63$  and  $35.55 \pm 2.58$ , respectively. The longer the UV irradiation time, the larger the CT values, with statistically significant differences. The CT value of the ventilation + UV irradiation for 120 minutes + 75% ethanol disinfectant + nucleic acid scavenger + 2 500 mg/L

effective chlorine preparation group after treatment was  $36.98 \pm 3.47$ , which was significantly higher than that before treatment and other groups, and the differences were statistically significant. **Conclusions** There are many amplified products, but nucleic acid scavenger, 2 500 mg/L effective chlorine and 120 minutes could be selected for UV irradiation. The treatment mode of space pollution environment could be selected ventilation + UV irradiation 120 minutes + 75% alcohol + nucleic acid scavenger + 2 500 mg/L effective chlorine combination mode, which is worthy of attention.

**【Key words】** Polymerase chain reaction; Novel coronavirus; Nucleic acid detection; Amplification products; Pollution control

**Fund Program:** Heilongjiang Provincial Health Commission Research Project (20211111000166)

荧光定量聚合酶链反应技术 (polymerase chain reaction, PCR) 最早在 1992 年由日本学者 Higuchi 首次报道,相较于传统的免疫学分离培养技术,荧光 PCR 技术可以在短时间内实现对模板百万倍的扩增,因此具有更好的灵敏度和特异度,随着该技术的不断完善,荧光 PCR 被逐渐应用于临床,目前主要用于各种病原体引起各类疾病的诊断<sup>[1-2]</sup>。尽管核酸检测技术具有诸多优点,但其超高的灵敏度导致一旦实验室出现核酸污染,则很容易得出假阳性结果,从而影响检测的准确度。随着我国经济与科技的迅猛发展,目前二级以上医院普遍开展了分子生物检测技术。而 PCR 扩增产物污染是 PCR 反应中最主要、最常见的污染问题。由于 PCR 产物拷贝量大,一般为  $10^{13}$  个拷贝 /mL,远超 PCR 检测拷贝数的极限,所以极微量的 PCR 产物污染即可造成假阳性结果,造成实验室被迫停用,而 PCR 产物污染的治理往往需要数日甚至数月的时间,已然成为困扰实验室的一大难题。PCR 产物污染在实验室范围内涉及物体表面污染和气溶胶污染,现有的实验大部分都是通过定性检测来分析常规清除方式对不同材质表面的核酸污染及气溶胶污染的清除效果<sup>[3]</sup>。新型冠状病毒(新冠病毒)的基因检测主要涉及 N 基因及 ORF1ab 基因,这两种特殊的基因片段扩增产物会随着物体表面附着度的不同而改变。此外,不同的清除方式对特定基因片段的清除效果也存在差异。本研究探讨荧光 PCR 法用于新冠病毒核酸检测时扩增产物污染治理的相关方法及效果,旨在为选择污染治理方式提供参考,现报告如下。

## 1 资料和方法

**1.1 仪器与试剂** 健之素牌消毒片(北京长江脉医药科技有限公司),核酸提取及检测试剂盒(中山大学达安基因股份公司),核酸清洁剂(山东博科公司),新冠病毒核酸(液体)质控品(北京康彻思坦生物技术有限公司),75%乙醇消毒液(山东安捷高科

消毒科技有限公司)。PANA 9600S 型天隆核酸提取工作站(西安天隆科技有限公司),LC480 型罗氏荧光定量 PCR 仪(美国罗氏公司),HFsafe-1200LC 型生物安全柜(成都川弘科生物技术有限公司),ZXC-II 型紫外消毒车(上海跃进公司),ZW30S19W 型紫外线杀菌灯(江苏申星光电医疗器械公司)。

## 1.2 研究方法

**1.2.1 建立模型** 新冠病毒基因检测扩增产物污染模型的扩增产物由 1 000 个拷贝 /mL 的弱阳性参照质控品扩增后获得,模型包括物面污染模型和空间(气溶胶)污染模型。① 建立物面污染模型:选择玻璃、塑料、金属作为物面污染模型的材质,以  $2.0 \text{ cm} \times 2.0 \text{ cm}$  范围为一个等位,各等位之间间隔 5 cm,分别以 75% 乙醇消毒液、不同浓度有效氯制剂、核酸清除剂等化学试剂及不同时间的紫外线照射的物理方法治理不同材质的物面污染模型,采集治理后样本进行荧光 PCR,通过 N 靶标的循环阈值(cycle threshold, CT 值)鉴定不同方法对固体表面核酸残留的清除效果,以 32 为临界值,大于临界值则表示清除效果好。② 建立空间(气溶胶)污染模型:于生物安全柜内雾化同浓度同体积的扩增产物后,分别采用不同时间的紫外线照射以及 75% 乙醇消毒液、不同浓度有效氯制剂、核酸清除剂喷雾静置 1 h,擦拭处理,以荧光 PCR 法鉴定不同处理方式对模拟气溶胶的清除效果。

**1.2.2 实验检测** ① 模拟物面污染:3 种材质分 8 组,每组设 5 个等位,分别在中心位置滴定  $10 \mu\text{L}$  相同浓度与体积的扩增产物,自然干燥,用作不同的化学试剂分组试验;化学对照组滴定纯净水。各组在密闭环境下作用 30 min,以棉拭子涂拭污染区,浸泡后以其为模板进行荧光 PCR 检测,通过 CT 值鉴定不同化学试剂对于固体表面核酸残留的清除效果。另外,在 3 种材质上设定 5 组物面模板,每组设 5 个等位,分别在中心位置滴定  $10 \mu\text{L}$  相同浓度与体

积的扩增产物,分别以 $\geq 100 \mu\text{w}/\text{cm}^2$ 的紫外线照射 30、60、90、120 min,并设置物理对照组。各组在密闭环境下作用完成后,以棉拭子涂拭污染区,浸泡后进行荧光 PCR 检测,通过 CT 值鉴定不同紫外线照射时长对固体表面核酸残留的清除效果。② 模拟空间污染环境:在生物安全柜内雾化相同浓度与体积的扩增产物,分别以不同时长(30、60、90、120 min)紫外线照射、75%乙醇消毒剂、不同浓度(500、1 000、1 500、2 000、2 500 mg/L)有效氯制剂、核酸清除剂喷雾处理,同时设物理和化学对照组。处理完成后,分别在不同工作台配制新冠病毒 PCR 体系,不加入阳性模板,以荧光 PCR 法鉴定不同处理方式对模拟气溶胶的清除效果。③ 后期定量实验:在通风环境中,以不同方案联合处理,定量测定治理前与治理后的产物量,筛选出新冠病毒核酸检测中扩增产物不同污染环境最适宜、最有效的治理组合。

**1.3 观察指标** ① 比较 75%乙醇消毒液、核酸清除剂和不同浓度有效氯制剂以及不同时长紫外线照射等治理方式对物面污染的清除效果;② 比较不同方案联合治理对空间污染环境的清除效果。

**1.4 伦理学** 本研究符合医学伦理学标准,并经本院伦理审批(审批号:SYLLBA202162)。

**1.5 统计学方法** 采用 SPSS 24.0 软件分析数据。计量资料符合正态分布,以均数  $\pm$  标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,采用 *t* 检验。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

**2 结果**

**2.1 不同化学试剂治理方式对物面污染的清除效果比较** 75%乙醇组、核酸清除剂组和不同浓度有效氯制剂组 CT 值均明显高于对照组;其中核酸清除剂组的 CT 值最高,玻璃、塑料、金属材质的 CT 值分别为  $34.74 \pm 2.63$ 、 $34.68 \pm 3.25$ 、 $35.71 \pm 3.07$ ;500、1 000、1 500、2 000、2 500 mg/L 有效氯制剂组对不同材质的 CT 值均明显高于 75%乙醇消毒剂组,且有效氯的浓度越高,CT 值越大,差异均有统计学意义(均  $P < 0.05$ )。见表 1。

**2.2 不同时长紫外线照射治理方式对物面污染的清除效果比较** 不同时长紫外线照射组的 CT 值均明显高于对照组;其中以紫外线照射 120 min 组的 CT 值最高,玻璃、塑料、金属材质的 CT 值分别为  $35.51 \pm 2.70$ 、 $35.49 \pm 2.63$ 、 $35.55 \pm 2.58$ ,且紫外线照射时长越长,CT 值越大,差异均有统计学意义(均  $P < 0.05$ )。见表 2。

**2.3 不同治理方式对空间污染环境的清除效果比**

较 紫外线照射 30、60、90、120 min 组治理后 CT 值均明显高于治理前及物理对照组(均  $P < 0.05$ )。核酸清除剂组及 1 000、1 500、2 000、2 500 mg/L 有效氯制剂组治理后的 CT 值明显高于治理前,且治理后的核酸清除剂组及 1 500、2 000、2 500 mg/L 有效氯制剂组的 CT 值明显高于化学对照组(均  $P < 0.05$ )。通风 + 紫外线照射 120 min+75%乙醇消毒剂组、通风 + 紫外线照射 120 min+核酸清除剂组、通风 + 紫外线照射 120 min+2 500 mg/L 有效氯制剂组、通风 + 紫外线照射 120 min+75%乙醇消毒剂 + 核酸清除剂 +2 500 mg/L 有效氯制剂组治理后的 CT 值明显高于治理前,且治理后的通风 + 紫外线照射 120 min+2 500 mg/L 有效氯制剂组及通风 + 紫外线照射 120 min+75%乙醇消毒剂 + 核酸清除剂 + 2 500 mg/L 有效氯制剂组的 CT 值明显高于联合对照组(均  $P < 0.05$ )。其中治理后的通风 + 紫外线照射 120 min+75%乙醇消毒剂 + 核酸清除剂 +2 500 mg/L 有效氯制剂组的 CT 值明显高于其他所有各组(均  $P < 0.05$ )。见表 3。

**表 1 不同化学试剂治理方式对不同材质物面污染的清除效果比较( $\bar{x} \pm s$ )**

组别	样本数 (份)	CT 值			
		玻璃	塑料	金属	
对照组	5	27.88 $\pm$ 2.36	27.74 $\pm$ 2.53	27.81 $\pm$ 2.32	
75%乙醇消毒液组	5	28.12 $\pm$ 3.14	28.09 $\pm$ 3.08	28.10 $\pm$ 3.13	
核酸清除剂组	5	34.74 $\pm$ 2.63 <sup>abc</sup>	34.68 $\pm$ 3.25 <sup>abc</sup>	35.71 $\pm$ 3.07 <sup>abc</sup>	
有效氯 制剂组	500 mg/L	5	29.26 $\pm$ 3.11	29.24 $\pm$ 2.91	29.30 $\pm$ 3.15
	1 000 mg/L	5	31.67 $\pm$ 3.07	31.54 $\pm$ 3.21	31.88 $\pm$ 3.09
	1 500 mg/L	5	32.25 $\pm$ 2.88 <sup>a</sup>	32.23 $\pm$ 2.59 <sup>a</sup>	32.38 $\pm$ 2.76 <sup>a</sup>
	2 000 mg/L	5	32.76 $\pm$ 3.10 <sup>ab</sup>	32.75 $\pm$ 3.20 <sup>ab</sup>	32.81 $\pm$ 3.24 <sup>ab</sup>
	2 500 mg/L	5	33.28 $\pm$ 2.51 <sup>abc</sup>	33.19 $\pm$ 2.48 <sup>abc</sup>	33.31 $\pm$ 3.08 <sup>abc</sup>
<i>F</i> 值		6.341	6.307	6.451	
<i>P</i> 值		0.012	0.013	0.008	

注:与对照组比较,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与 75%乙醇消毒液组比较,<sup>b</sup> $P < 0.05$ ;与 500 mg/L 有效氯组比较,<sup>c</sup> $P < 0.05$

**表 2 不同时长紫外照射治理方式对不同材质物面污染的清除效果比较( $\bar{x} \pm s$ )**

组别	样本数 (份)	CT 值			
		玻璃	塑料	金属	
对照组	5	26.85 $\pm$ 2.31	26.79 $\pm$ 2.38	26.88 $\pm$ 2.44	
紫外线 照射组	30 min	5	31.24 $\pm$ 2.47 <sup>a</sup>	31.22 $\pm$ 2.30 <sup>a</sup>	31.33 $\pm$ 2.39 <sup>a</sup>
	60 min	5	33.48 $\pm$ 3.12 <sup>a</sup>	33.45 $\pm$ 3.09 <sup>a</sup>	33.52 $\pm$ 3.06 <sup>a</sup>
	90 min	5	34.36 $\pm$ 2.57 <sup>a</sup>	34.32 $\pm$ 2.54 <sup>a</sup>	34.43 $\pm$ 2.64 <sup>a</sup>
	120 min	5	35.51 $\pm$ 2.70 <sup>ab</sup>	35.49 $\pm$ 2.63 <sup>ab</sup>	35.55 $\pm$ 2.58 <sup>ab</sup>
<i>F</i> 值		8.257	7.983	8.334	
<i>P</i> 值		0.000	0.000	0.000	

注:CT 值为循环阈值;与对照组比较,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与紫外线照射 30 min 组比较,<sup>b</sup> $P < 0.05$

表 3 不同治理方式对空间污染环境的清除效果比较

组别	样本数 (份)	CT 值	
		治理前	治理后
物理对照组	5	26.82±2.21	26.85±3.02 <sup>d</sup>
30 min	5	26.82±2.21	31.27±2.51 <sup>ade</sup>
紫外线照射组	5	26.82±2.21	32.27±2.28 <sup>ade</sup>
60 min	5	26.82±2.21	33.02±1.42 <sup>ade</sup>
90 min	5	26.82±2.21	33.09±1.34 <sup>ade</sup>
120 min	5	26.82±2.21	27.76±2.43 <sup>d</sup>
化学对照组	5	26.82±2.21	28.24±2.31 <sup>d</sup>
75% 乙醇消毒液组	5	26.82±2.21	32.25±2.40 <sup>bde</sup>
核酸清除剂组	5	26.82±2.21	29.27±2.16 <sup>d</sup>
500 mg/L	5	26.82±2.21	31.52±3.02 <sup>de</sup>
有效氯制剂组	5	26.82±2.21	32.20±2.23 <sup>bde</sup>
1 500 mg/L	5	26.82±2.21	32.78±2.07 <sup>bde</sup>
2 000 mg/L	5	26.82±2.21	33.04±1.50 <sup>bde</sup>
2 500 mg/L	5	26.82±2.21	28.24±3.16 <sup>d</sup>
联合对照组	5	26.82±2.21	32.26±2.41 <sup>de</sup>
通风 + 紫外线照射 120 min + 75% 乙醇消毒液组	5	26.82±2.21	32.28±2.35 <sup>de</sup>
通风 + 紫外线照射 120 min + 核酸清除剂组	5	26.82±2.21	33.08±1.28 <sup>cde</sup>
通风 + 紫外线照射 120 min + 2 500 mg/L 有效氯组	5	26.82±2.21	36.98±3.47 <sup>ce</sup>
通风 + 紫外线照射 120 min + 75% 乙醇消毒液 + 核酸清除剂 + 2 500 mg/L 有效氯制剂组	5	26.82±2.21	
F 值		0.000	10.241
P 值		1.000	0.000

注：与物理对照组比较，<sup>a</sup> $P < 0.05$ ；与化学对照组比较，<sup>b</sup> $P < 0.05$ ；与联合对照组比较，<sup>c</sup> $P < 0.05$ ；与通风 + 紫外线照射 120 min + 75% 乙醇消毒液 + 核酸清除剂 + 2 500 mg/L 有效氯制剂组比较，<sup>d</sup> $P < 0.05$ ；与治理前比较，<sup>e</sup> $P < 0.05$

### 3 讨论

PCR 检测法具有操作简便、灵敏度高、特异性强等优点，但也常因标本受 PCR 扩增产物污染而产生假阳性结果<sup>[4-7]</sup>。目前，荧光 PCR 法被应用于新冠病毒核酸检测，如何有效清除核酸污染是需要着重考虑的问题，本研究主要探讨荧光 PCR 法应用于新冠病毒核酸检测时扩增产物污染的治理方法，以期提供一种有效的清除核酸污染策略。

本研究结果显示，与对照组比较，核酸清除剂组和 1 500、2 000、2 500 mg/L 有效氯制剂组的 CT 值明显更高；与 75% 乙醇消毒液组比较，核酸清除剂组和 2 000、2 500 mg/L 有效氯制剂组的 CT 值明显更高。与 500 mg/L 有效氯制剂组比较，核酸清除剂组及 2 500 mg/L 有效氯制剂组 CT 值明显更高，差异均有统计学意义。提示使用核酸清除剂以及浓度越高的有效氯制剂产生的清除效果越好，其中 2 500 mg/L 有效氯制剂产生的清除效果与核酸清除剂相近。分析其原因为，含氯消毒剂及核酸清除剂要达到破坏和清除的效果，通常需要先破坏病毒外

的人体细胞，穿透病毒自身的脂质包膜层后，方可对病毒的核酸产生作用<sup>[8-10]</sup>。因此，有效氯的浓度越高，才能充分确保病毒核酸的清除过程中有足量有效氯发挥作用，因此清除效果也越好。陈茂义等<sup>[11]</sup>研究指出，有效氯浓度在超过 1 000 mg/L 时即可对新冠病毒 RNA 产生良好的破坏效果，且仅需 30 s 即可将其完全破坏。而当有效氯浓度为 750 mg/L 时，只需作用 5 min 反转录 PCR (reverse transcription-PCR, RT-PCR) 就能显示为双靶标阳性，超过 15 min 即可显示双靶标阴性。且 PCR 测定所得 CT 值与作用时间呈正相关，即作用时间越长，所得 CT 值越大。但本研究结果显示，2 500 mg/L 有效氯制剂的清除效果更佳，原因考虑与样本模型的设计不同及病毒载量不同等因素有关。同时，本研究结果显示，与对照组比较，紫外线照射 30、60、90、120 min 组的 CT 值明显更高；与紫外线照射 30 min 组比较，紫外线照射 120 min 组的 CT 值明显更高，差异均有统计学意义。提示采用物理方式治理物面污染时，紫外线照射时间越久，治理效果越好，以照射 120 min 为最佳。原因主要是时间充足的紫外线照射充分对被污染物面区域进行了有效消杀，最终产生了良好的清除效果<sup>[12-14]</sup>。此外，本研究表明，紫外线照射 30、60、90、120 min 组治理后的 CT 值明显高于治理前及物理对照组；核酸清除剂组及 1 000、1 500、2 000、2 500 mg/L 有效氯制剂组治理后的 CT 值明显高于治理前，且治理后核酸清除剂组及 1 500、2 000、2 500 mg/L 有效氯制剂组的 CT 值明显高于化学对照组；通风 + 紫外线照射 120 min + 75% 乙醇消毒液组、通风 + 紫外线照射 120 min + 核酸清除剂组、通风 + 紫外线照射 120 min + 2 500 mg/L 有效氯制剂组、通风 + 紫外线照射 120 min + 75% 乙醇消毒液 + 核酸清除剂 + 2 500 mg/L 有效氯制剂组治理后的 CT 值均明显高于治理前，且通风 + 紫外线照射 120 min + 2 500 mg/L 有效氯制剂组及通风 + 紫外线照射 120 min + 75% 乙醇消毒液 + 核酸清除剂 + 2 500 mg/L 有效氯制剂组的 CT 值明显高于联合对照组。其中治理后的通风 + 紫外线照射 120 min + 75% 乙醇消毒液 + 核酸清除剂 + 2 500 mg/L 有效氯制剂组的 CT 值明显高于其他各组，差异均有统计学意义。上述结果提示物理治理法、化学治理法以及联合治理法对于空间污染环境均具有一定的清除效果，但以通风 + 紫外线照射 120 min + 75% 乙醇消毒液 + 核酸清除剂 + 2 500 mg/L 有效氯制剂的联合

治理方式的清除效果最佳, CT 值也最高。该治理方式在环境通风的基础上充分发挥了多学科、多角度精准治理的优势,有效结合了物理及化学手段,最终产生了协同增效的污染清除作用。实际上,紫外线照射在联合治理方式中主要通过诱导病毒核酸当中所含的胞嘧啶以及胸腺嘧啶形成嘧啶二聚体,从而破坏核酸结构,产生消毒及清除核酸污染等作用<sup>[15-16]</sup>。同时,波长 185 nm 的紫外线能够使空气中的氧气不断转化为臭氧,而臭氧具有强氧化作用,最终能破坏病毒核酸而发挥消毒作用。而臭氧分子的弥散作用也能较好地弥补紫外线直线消毒的缺陷。75% 乙醇消毒剂主要通过诱导病毒内的蛋白质发生变性而产生消毒作用。但浓度过高的乙醇会在微生物表层产生荚膜而无法破坏病毒内部结构;乙醇浓度过低时,又会因为挥发影响消毒效果。75% 乙醇则有效避免了上述情况,能够因其物理沉降及非直接的破坏作用而最终达到有效清除核酸污染的效果。核酸清除剂是一种专门用于清除核酸污染的溶液,包含 A 液和 B 液两部分。A 液能够调节核酸表层的电荷分布,引发自被污染区域的表面脱落,同时能够通过物理擦拭以及 B 液产生的非酶水解效果而达到消除核酸污染的作用。2 500 mg/L 有效氯属于含氯消毒剂的一种,主要通过形成具有强氧化作用的化学物质次氯酸,使核酸发生直接裂解。有研究显示,使用 2 000 mg/L 有效氯制剂亦可完全清除塑料、金属以及玻璃表层的核酸污染,但其同时也指出 5 500 mg/L 有效氯制剂也有类似效果<sup>[17-19]</sup>。本研究显示,2 500 mg/L 浓度的有效氯即可获得满意的清除效果,因此推荐将该浓度作为污染清除时的使用剂量。

综上所述,荧光 PCR 法新冠核酸检测时扩增产物污染的治理方式较多,但对物面污染进行治理时可选择核酸清除剂或 2 500 mg/L 有效氯制剂的化学方式,以及紫外线照射 120 min 的物理方法。对空间污染环境的治理可选择通风+紫外线照射 120 min+75% 乙醇消毒剂+核酸清除剂+2 500 mg/L 有效氯制剂的联合方式。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

## 参考文献

1 ESPY M J, UHL J R, SLOAN L M, et al. Real-time PCR in clinical microbiology: applications for routine laboratory testing [J]. Clin Microbiol Rev, 2006, 19 (1): 165-256. DOI: 10.1128/CMR.19.1.165-256.2006.

2 HEID C A, STEVENS J, LIVAK K J, et al. Real time quantitative PCR [J]. Genome Res, 1996, 6 (10): 986-994. DOI: 10.1101/gr.6.10.986.

3 李云龙, 张健, 魏艳秋, 等. 分子诊断实验室去除核酸污染的方法学研究[J]. 生物工程学报, 2021, 37 (2): 673-679. DOI: 10.13345/j.cjb.200390.

4 王启航, 金城, 关小桐, 等. 新型冠状病毒肺炎疫情下某市三级医院病案消毒防护方式调查[J]. 中国病案, 2020, 21 (8): 3-6. DOI: 10.3969/j.issn.1672-2566.2020.08.002.

5 缪从良, 赵奇, 王宁, 等. 分析和比较确诊和疑似新型冠状病毒肺炎患者的临床特征 [J]. 中国中西医结合急救杂志, 2020, 27 (1): 27-31. DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2020.01.008.

6 张燕, 江珉, 何红艳, 等. 三种消毒方式对医院半污染区的新冠状病毒消毒有效性研究 [J]. 中国消毒学杂志, 2020, 37 (7): 548-549. DOI: 10.11726/j.issn.1001-7658.2020.07.022.

7 曹娴, 浦晓红, 许晔琼, 等. 热灭活处理对新型冠状病毒鼻咽拭子核酸检测质量的影响 [J]. 实用检验医师杂志, 2022, 14 (3): 263-266. DOI: 10.3969/j.issn.1674-7151.2022.03.010.

8 王曙, 张博, 卓炯, 等. 上海市黄浦区 2022 年新冠病毒感染者相关环境新冠病毒污染调查 [J]. 中国热带医学, 2022, 22 (12): 1184-1187. DOI: 10.13604/j.cnki.46-1064/r.2022.12.15.

9 刘卫平, 张凯, 王涛, 等. 新型冠状病毒感染疫情期间医院环境消毒现状调查 [J]. 中国消毒学杂志, 2023, 40 (3): 179-181. DOI: 10.11726/j.issn.1001-7658.2023.03.007.

10 高文超, 台枫, 程东浩, 等. 三种消毒方式对不同材质感染性外包装消毒效果观察 [J]. 环境卫生学杂志, 2023, 13 (2): 144-148. DOI: 10.13421/j.cnki.hjwsxzz.2023.02.013.

11 陈茂义, 胡婕, 毛春林, 等. 含氯消毒剂对新型冠状病毒核酸破坏效果研究 [J]. 公共卫生与预防医学, 2020, 31 (3): 22-24. DOI: 10.3969/j.issn.1006-2483.2020.03.006.

12 赵昊宁, 魏凌, 孙红云, 等. 新型冠状病毒肺炎防控现场消毒技术研究 [J]. 生物医学工程学杂志, 2020, 37 (4): 566-571, 578. DOI: 10.7507/1001-5515.202003010.

13 张明洪, 何树森, 张艳, 等. 新型冠状病毒感染者居住环境用品核酸检测与分析 [J]. 现代预防医学, 2020, 47 (19): 3494-3496.

14 黄清臻, 赵增明, 王莉莉, 等. 新型冠状病毒肺炎疫情精确消毒技术 [J]. 医学动物防制, 2021, 37 (8): 761-763. DOI: 10.7629/yxdwzf.202108013.

15 周妍妍, 南征, 苏建荣, 等. 含氯消毒剂对纯化病毒 RNA 消除效果及影响因素研究 [J]. 首都公共卫生, 2022, 16 (6): 333-337. DOI: 10.16760/j.cnki.sdggws.2022.06.005.

16 南征, 周妍妍, 苏建荣, 等. 不同消毒方式对流感病毒 RNA 消除效果的研究 [J]. 中国消毒学杂志, 2022, 39 (6): 410-413. DOI: 10.11726/j.issn.1001-7658.2022.06.003.

17 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, 43 (2): 273-277. DOI: 10.7652/jdyxb.202202019.

18 李育敏, 郭东月, 张兵, 等. 新型冠状病毒感染者核酸复阳的 Ct 值跟踪分析 [J]. 中华危重病急救医学, 2023, 35 (4): 427-430. DOI: 10.3760/cma.j.cn121430-20230107-01130.

19 张松, 严小松, 平措扎西, 等. 中西医结合治疗高原地区新型冠状病毒感染患者的疗效评价 [J]. 中国中西医结合急救杂志, 2022, 29 (6): 699-703. DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2022.06.012.

(收稿日期: 2023-06-16)

(本文编辑: 邵文)