

从严 从紧 从细 从实 抓好疫情防控

市民好奇催问,但PCR实验室检验人员必须大胆沉稳,不能有丝毫差池——

一份准确的核酸报告这样诞生

本报记者 郢阳

这两天,经历了第一批“网格化”筛查的市民发现,有些小区已经重新进入“决赛圈”,有些延长了管控时间。其中起到关键作用的,是一份份核酸报告。

对于市民来说,核酸检测看似只有两步:登记采样,等待数小时后在健康云App上查询结果。事实上,这背后凝聚了基因扩增实验室(PCR实验室)检验人员的大量工作。

采样后,标本经历了怎样的“奇幻漂流”之旅?本报记者近日走进同济大学附属东方医院南院检验科PCR实验室,听吴文娟主任揭秘一份准确的核酸报告是如何诞生的。

标本转运签收

环节:清点密封消毒

“医生,我今天在你们医院做的核酸什么时候有结果呀?还要多久呀?”

“医生,我急需核酸报告,能加急帮我检测一下吗?”

这几天,申城各医疗机构的医务人员总会接到这样的询问电话。很多人想象,核酸采样后,直接用机器检测很快就能出结果了。但其实,自从采样护士在你的鼻部或咽部“轻捻慢捻”后,还要经过标本签收、核酸提取、核酸转移、核酸扩增、结果审核等步骤。

核酸检测样本采集后,采集人员会清点数目,并用密封袋包装好,用消毒剂喷洒消毒,然后放进标本转运箱,由专人送到核酸检测实验室。检测人员收到样本后会先对转运箱消毒,并在开启后对转运箱内壁和标本采集密封袋二次消毒,随后拆开密封袋取出样本。

“核酸的采集管上都有条码信息,签收人员要理清标本来自哪一个社区或人群,是单采还是混采。”吴文娟表示,“另外,我们还会留意标本上的时间,便于日后需要时回溯。”

赋予“身份证”

要点:识空管防溢洒进负压

之后,核酸标本就将经历“奇幻漂流”的第二步——要有“身份证”啦!检验人员则将这一步称为“标本前处理”。“PCR反应是在96孔板上实现的,每一个孔位都应该有自己独一无二的身份。”吴文娟说。

看似只是“前处理”,但防备之心可是一点儿也不能松。检验人员要识别空管或溢洒情况的发生。尤其在大人混10:1混采时,小小的试管被拭子挤满,一旦阳性标本出现了溢洒,一方面可能造成其他标本结果的污染(假阳性),另一方面会对实验室的生物安全产生威胁——这是PCR实验室的检验人员同样要穿成“大白”模样的原因——医用帽子、N95口罩、面屏、护目镜、医用防护服、隔离衣、一次性鞋套、两层手套,有了这些“束缚”,才能给检验人员创造最安全的环境。

此外,PCR实验室要求严格分区,最好是负压实验室。空气流动只会从外向内,那么实验室里的污染就不会扩散到外界,可以保证实验室外面的安全。

PCR加样

目标:“揪出”遗传物质

拿到“身份证”的核酸标本并不能直接测试,而是要先提取核酸,对其进行扩增。因此,核酸标本“奇幻漂流”的下一站,是PCR加样区——简单来说,检验人员要把病毒的遗传物质(核糖核酸)给“揪出来”。

检验人员戴着双层手套,在生物安全柜内一管一管地拧开螺旋盖,手工吸取样本,加入核酸提取板孔中,再拧上螺旋盖将标本放回原处。

“有多少份样本就有多少次的重复操作。”吴文娟说。那时,检验人员与新冠病毒“擦肩而过”的距离可能只隔着两层乳胶手套——也就是2毫米,但核酸检测工作不允许他们害怕。

获得核酸后,检验人员用移液枪将核酸转移至事先准备好反应液的反应管里,制成反应体系,让它进入“奇幻漂流”的下一站:扩增分析区。

“不能出错,不能有遗漏,不能发生生物安全事故。可以说检验人员全身时刻处于高度紧张的状态。就单说‘加样’,检验人员要用极小的枪头将每个提取好的核酸,大概是一滴水的四分之一加入到试剂中,每一步操作都必须十二分地谨慎。”吴文娟告诉记者,“我们迫切希望能有开盖、加样的仪器来‘解放’检验人员,可现有的仪器在速度上并不能令人满意,遇上大样本筛查只能靠手工操作。”

核酸扩增

关键:开弓没有回头箭

经历了复杂费时的前期制备过程,样本终于来到了“奇幻漂流”的关键一站。样本的采样质量如何、核酸提取的质量如何、结果如何都将在此处见分晓。

这里不得不提一下曾斩获诺贝尔奖的聚合酶链反应(PCR),这是上世纪80年代中期发展起来的一项体外核酸扩增技术,它可以将目标基因片段于数小时内扩增百万倍至数亿倍,成为当今生命科学研究最为重要且广泛使用的技术手段之一。

怎么理解扩增?如果把标本提取出来的核酸看作是一块土地,新冠病毒是种子,如何知道土地里有没有种子?简单的方法是,加点水和肥料(试剂),让种子一个变两个、两个变四个、四个变八个……“病毒是看不到的,而且微量标本也不容易检测到,所以要让它变多,才方便检测出来。”吴文娟解释。

当反应管在机器上开始检验后,也就意味着“开弓没有回头箭”——从采样到核酸制备,任何一个环节出现问题都可能导致返工重测,从而使报告时间加倍。

3月15日,国家卫健委发布《新型冠状病毒肺炎诊疗方案(试行第九版)》。其中,《方案》将解除隔离管理和出院标准修改为“连续两次新型冠状病毒核酸检测N基因和ORF基因CT值均 ≥ 35 (荧光定量PCR方法,界限值为40,采样时间至少间隔24小时)”,这儿的“CT”是指扩增的阈值。“简单来说,CT值越低,说明阳性越强;CT值越高,说明阳性越弱。”

作为初筛实验室,只能向疾控中心报告“疑似阳性”。“我们会将CT值登记报告,上报相应区域的疾控部门。随后根据疾控的要求转运原管标本以供复核。”吴文娟说,PCR实验室也会通过紫外线消毒。据介绍,通常阴性标本会储存一两天以备查验。



在PCR仪上进行的扩增检测,要历时约一个半小时
检验人员为样本编号并录入信息
本报记者 徐程 摄



结果审核

标准:确保无误报结果

走到这,核酸标本的“奇幻漂流”之旅并没有结束。检测人员需要对扩增结果进行分析:包括同批随样本检测的阴阳性质控结果是否在控、基线设置、逐孔分析内标及样本结果是否正常等。当阴阳性质控全部符合检测要求,排除假阴性、假阳性可能,对异常结果样本及时进行复核,确保无误后才能最终报告结果,并上传到健康云。

有人好奇,健康云核酸结果查询里,

“OFR1a/b 阴性, N 基因阴性”是什么意思?吴文娟解释,这是新型冠状病毒核酸的两个特异性片段,“一般同一份标本中两个基因检测结果均为阳性,会判断为阳性,单基因阳性则需复检。”

“现在我们检验科的工作包括了‘愿检尽检’——市民需要核酸阴性报告这张

‘通行证’的;‘应检尽检’——住院患者和陪护,还有医院承担的密接、次密接及高风险人群的核酸检测。这几天,还有‘网格化’筛查的任务。”吴文娟的语气里透露着疲惫。

仪器运行时,检测人员也不能轻松一会儿,此时,新的一批标本又来了。吴文

娟说,检验人员一直在超负荷运转。“防护服是不透气的,全身罩在里面,刚穿上就会很热。加之机器一刻不停,热量积聚一天后整个实验室会非常闷热,即使开着空调,室内温度也会达到28℃-30℃。此外,实验室里静电也很强烈,因此也特别干燥。”她说,“我们中的很多人已经连续几天都没有回过家了,大家都是‘5+2’‘白+黑’的节奏在工作,能够躺下来休息一会,就觉得很满足了。”