

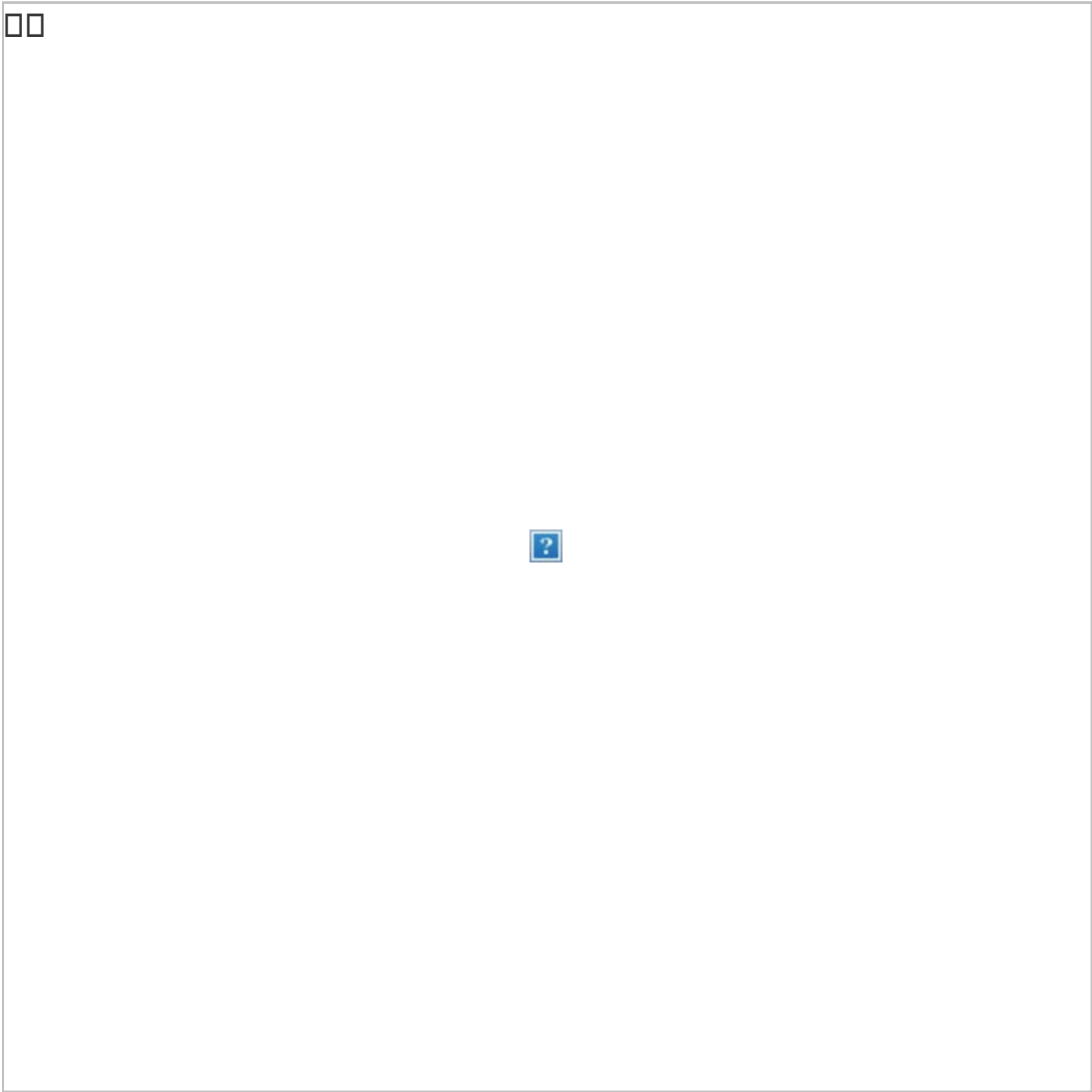
核酸气溶胶污染的终极解决方案

 原博士 原博士带你做检测 8月1日

收录于话题
#案例分享

7个

PCR类的方法与核酸检测实验室的核酸气溶胶污染就像一个硬币的两面，我们只能选择都要或者都不要，而无法选择要字还是要花。我的实验室也污染过：[案例分享：当PCR实验室发生污染时该怎么做？](#)我也做了很多的实验来筛选一个好的核酸去除剂[DNA去除剂不能成为实验室“隐秘的角落”！](#)结果让人触目惊心。可是对于从事核酸检测的实验室人员内心一直渴望一种终极的核酸气溶胶污染解决方案：对核酸气溶胶污染的房间进行空气核酸清除。这个实验我从构思到断断续续的实验用了差不多1年的时间，这期间也有和很多朋友进行交流，最终形成下面的实验方案。



一、DNA去除剂的筛选

要实现核酸气溶胶污染的空间清除，首先要筛选出在液体状态下可以去除核酸的DNA去除剂。因为真正管用的DNA去除剂也不多。实验方法详见：[DNA去除剂不能成为实验室“隐秘的角落”！](#)

本次试验将经过数字PCR定量的100 copies/ μ L（CT约为31）ASFV质粒与DNA去除剂按照等体积混合，室温分别作用10min，20min和30min，**进行核酸提取后**，进行qPCR扩增，与质粒和水混合的阳性对照进行比较。由于并非同一次实验完成，所以结果之间可能存在一定的偏差，但是不影响试验的结论。到目前为止我一共评价了10种市售DNA去除剂产品，只有1号，6号和8号产品在液体状态下可有效降解质粒DNA，其他产品几乎无任何效果。

表1 市售DNA去除剂的核酸去除效果

二、常用消毒剂的DNA去除效果实验

1.常用消毒剂的筛选

实验室中常用的消毒剂种类众多：醛类、酚类、醇类、季铵盐类、过氧化物、氯制剂以及酸碱，这些消毒剂对微生物的消毒效果已经经过充分的实验验证，但是对于核酸的降解效果尚没有充分的实验数据。对于核酸检测实验室需要一种既对微生物的消毒效果好同时又能降解DNA的消毒剂。试验结果表明，仅84消毒液和三氯异氰尿酸两种氯制剂和1 M盐酸符合要求。由于1 M盐酸具

有较强的腐蚀性，重点推荐氯制剂作为核酸检测实验室的废弃物处理，但是氯制剂具有金属腐蚀性，不能用于仪器设备的消毒。

表2 不同类型消毒剂的DNA去除效果

2. 氯制剂的最低有效浓度

氯制剂类消毒液具有强大的DNA降解作用，但是由于其有金属腐蚀性和刺激性，使用时可用于清洁地面，非金属台面以及浸泡吸头、离心管等试验物品。

根据《新冠肺炎疫情消毒技术指南》：污染物（患者血液、分泌物和呕吐物）有效氯 5g/L-10g/L 的含氯消毒液；地面、墙壁、物体表面使用有效氯 1g/L 的含氯消毒液；衣服、被褥等纺织品先用有效氯 0.5g/L 的含氯消毒液浸泡 30 分钟，然后按常规清洗。

表3 氯制剂消毒液不同浓度的DNA去除效果

试验结果表明：作用5min时，有效氯浓度大于等于1.2 g/L的含氯消毒液，可将100 copies/ μ L质粒完全降解。作用10min时，有效氯浓度大于等于0.6 g/L的84消毒液，可将100 copies/ μ L质粒完全降解。

三、核酸气溶胶污染的空气净化实验

核酸气溶胶污染的空气清除实验如何做呢？大部分想到的都是造一个气溶胶污染的环境然后进行清除，或者是污染之后进行核酸清除。对于我来说一个无法重复、实验结果无法定量分析的实验是没有意义的，所以我借鉴了消毒剂空气消毒的一些方法。参见《GB27948-2020 空气消毒剂通用要求》和《消毒技术规范》

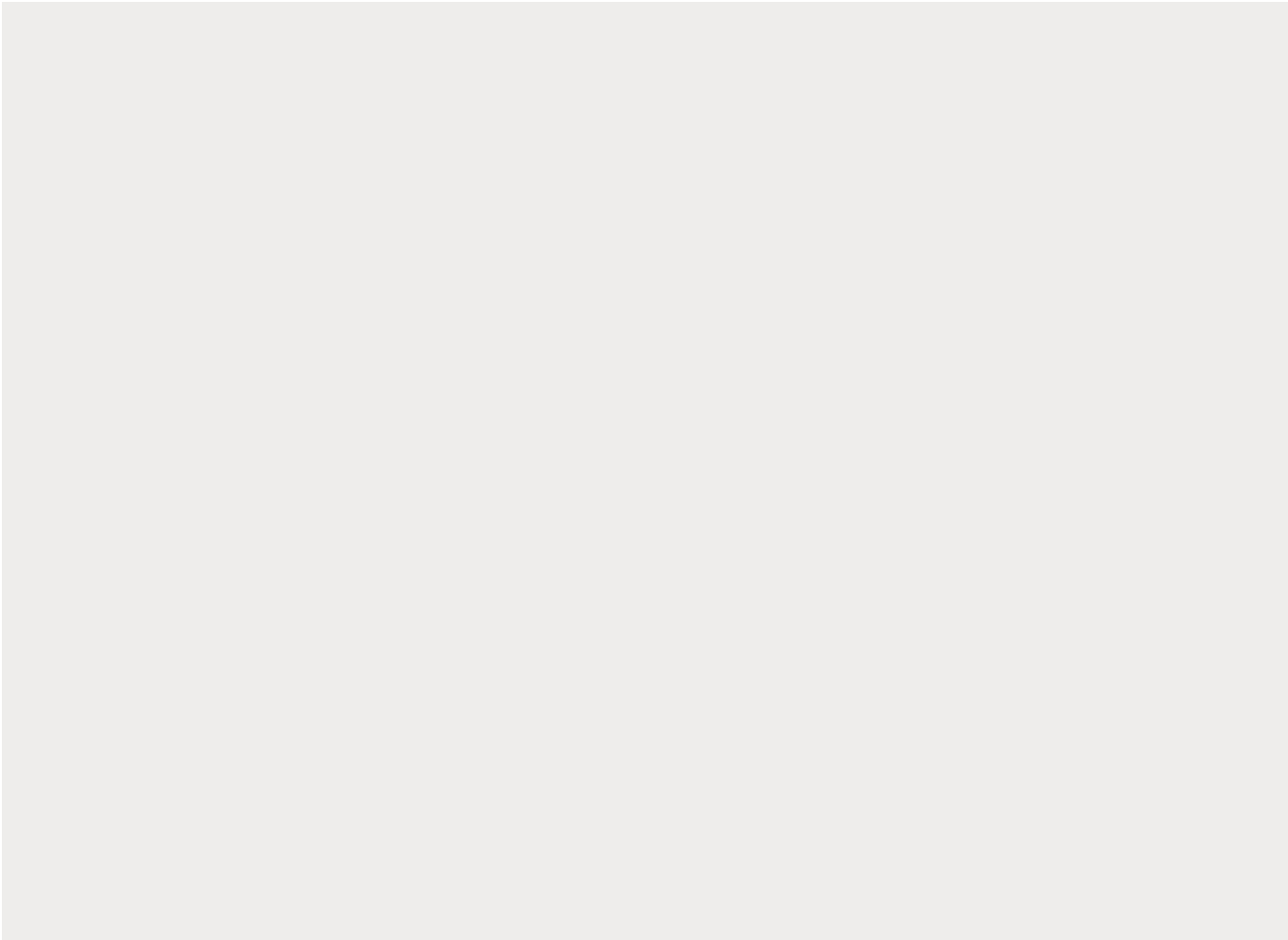
1. 试验材料

1.1DNA去除剂: 本次试验共选择了表1中6和8两款市售DNA去除剂。

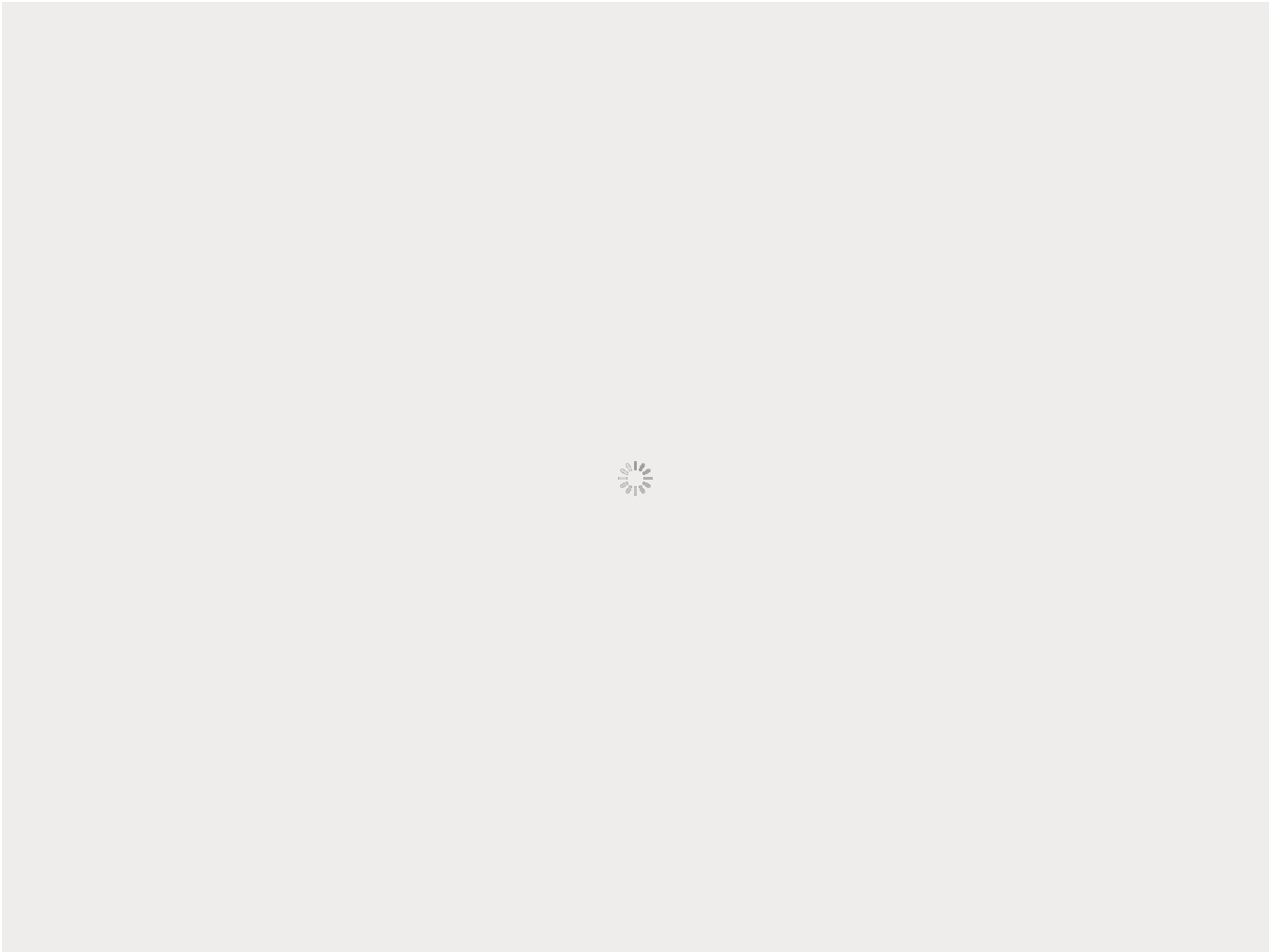
1.2测试质粒：由于考虑到大部分实验室污染的CT值都会高于30，因此本次使用的ASFV基因质粒浓度约为100 copies/ μ L，荧光定量PCR CT约为 31.07。将质粒加到植绒棉签上风干。



1.3测试仪器：由深圳润联环保科技有限公司友情支持的比林科汉KVBOX消毒仪，该仪器配合过氧化氢消毒液具有优异的空气消毒性能，可有效杀灭芽孢等微生物。

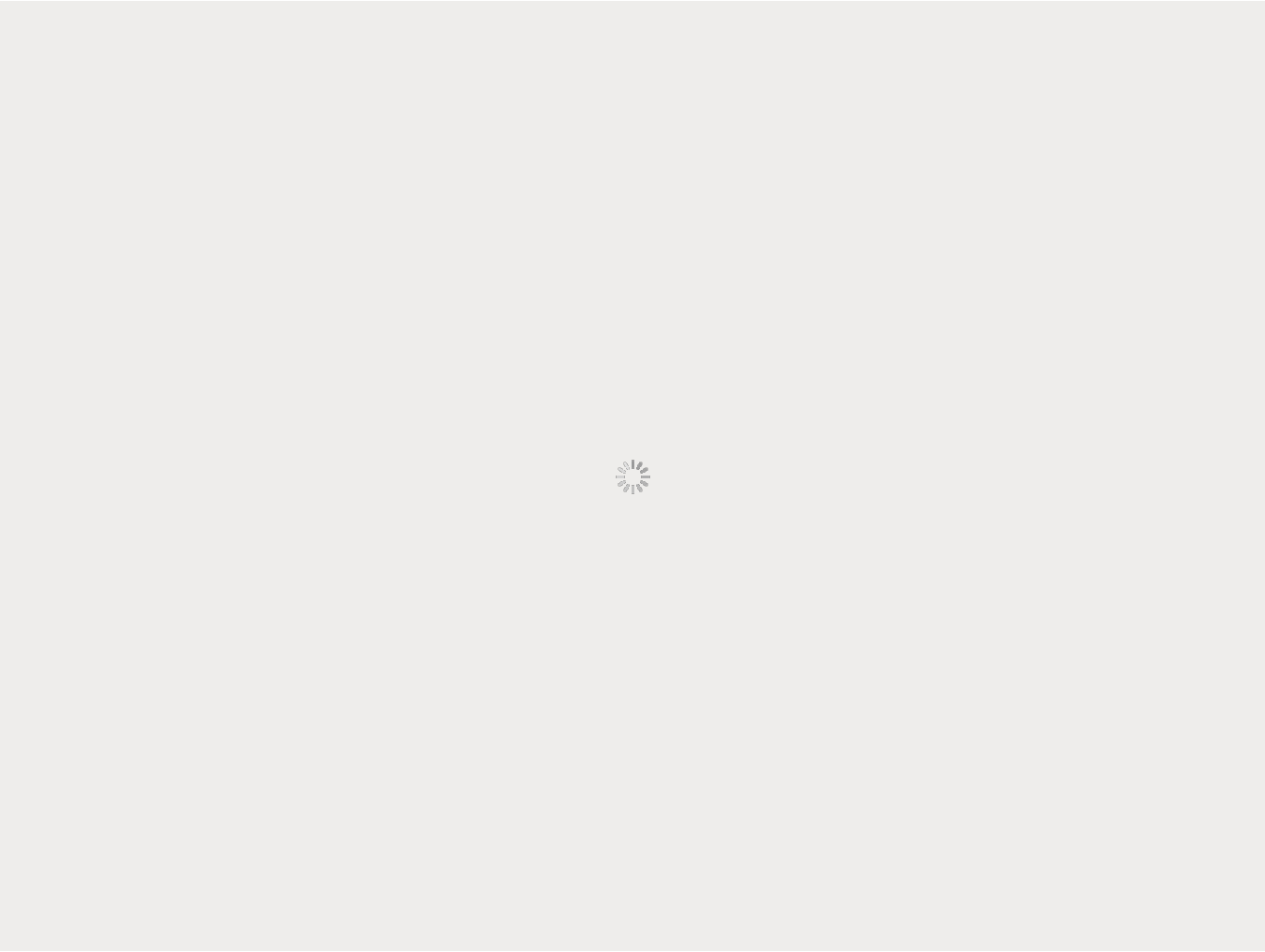


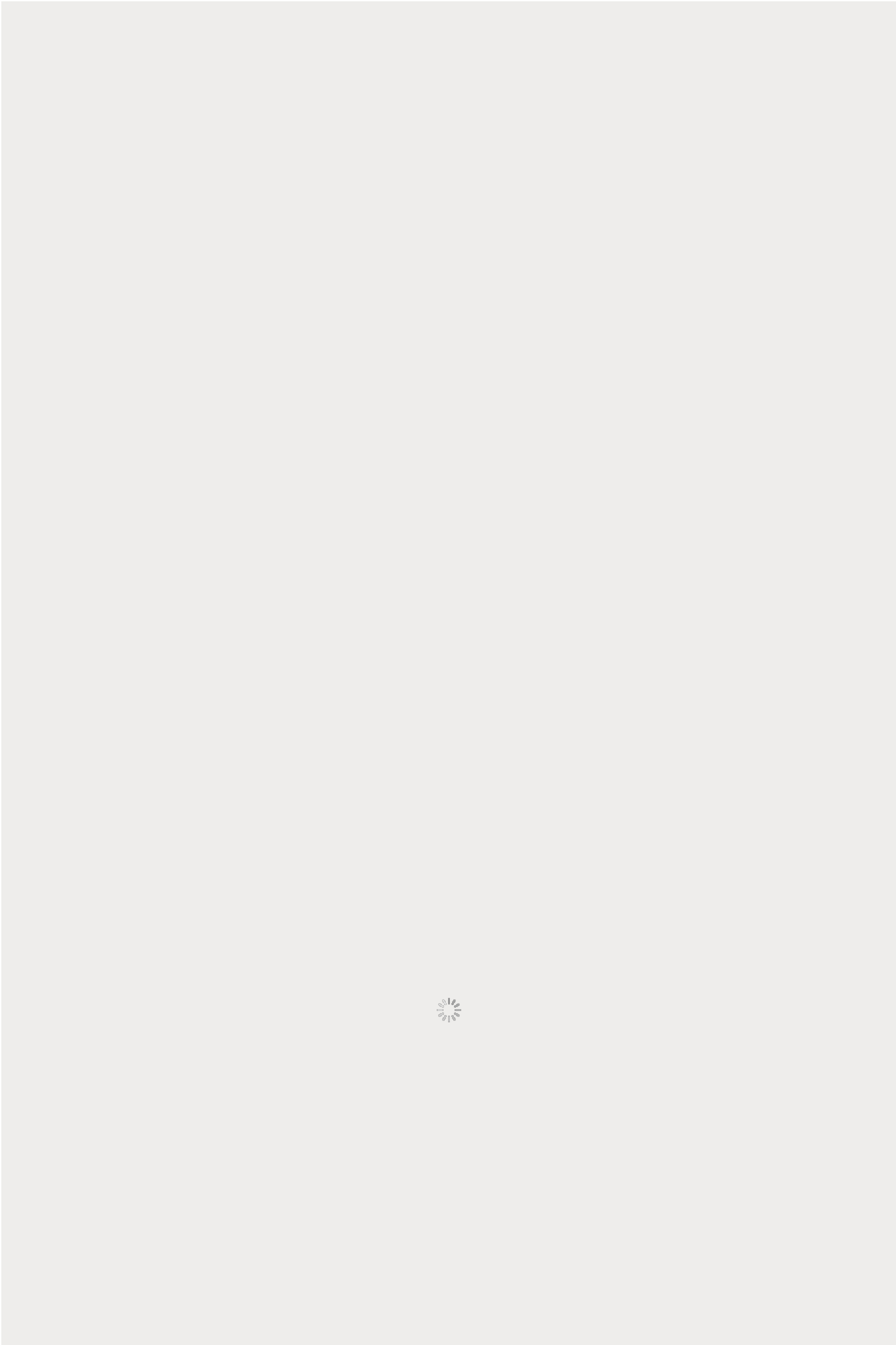
1.4测试空间：约0.1立方米的密闭传递窗。

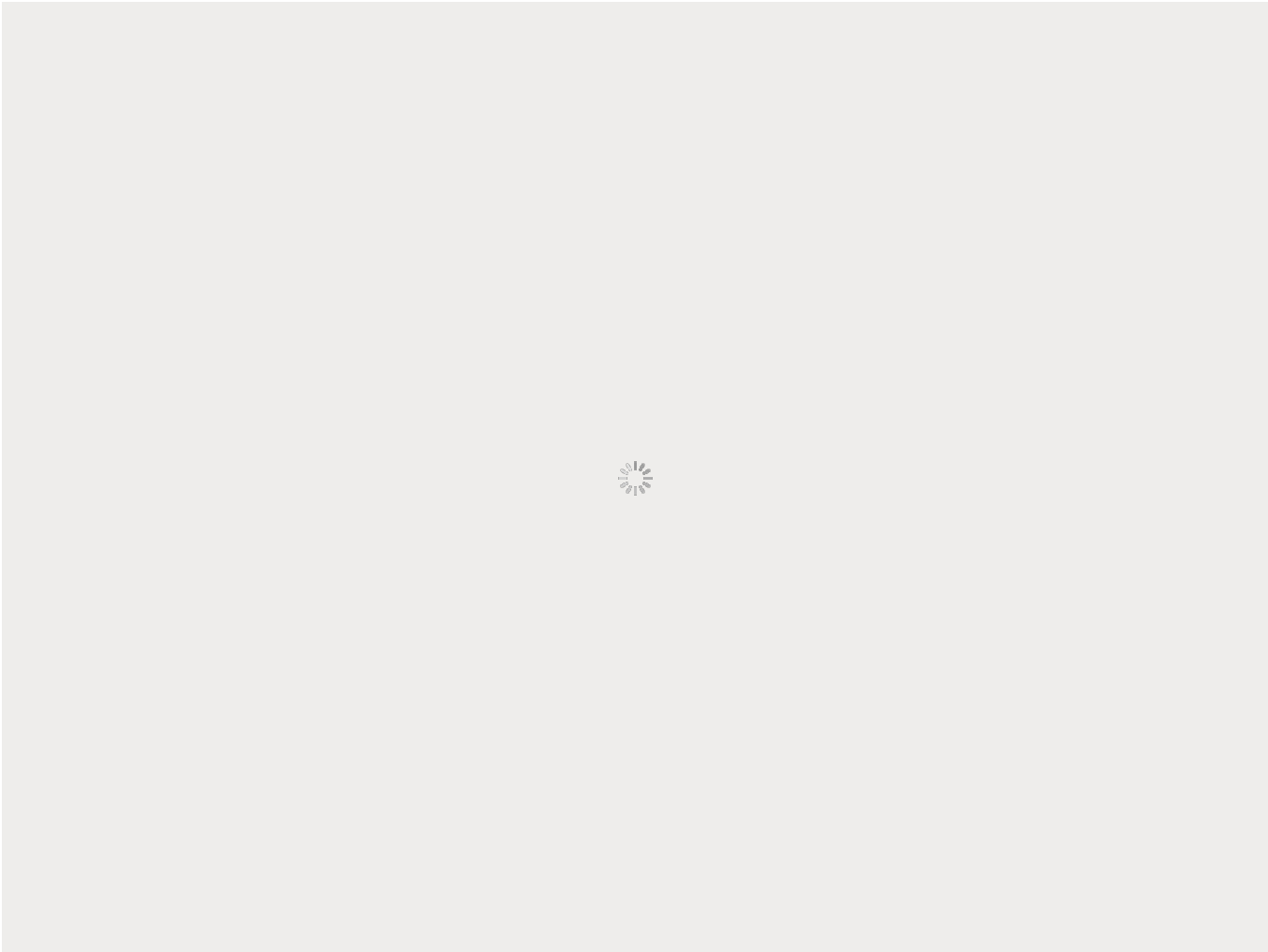


2.试验方法

消毒机上设置消毒液的量为10ml，浓度为100 ml/m3，远远高于《GB27948-2020 空气消毒剂通用要求》：使用气溶胶喷雾消毒时，消毒剂用量应≤10 ml/m3。







喷雾后密闭2h，之后将加有质粒的植绒拭子用TE洗脱，同时设未经熏蒸的加有质粒的植绒拭子作为对照。使用荧光定量PCR方法进行检测。

表4 空气核酸去除试验结果

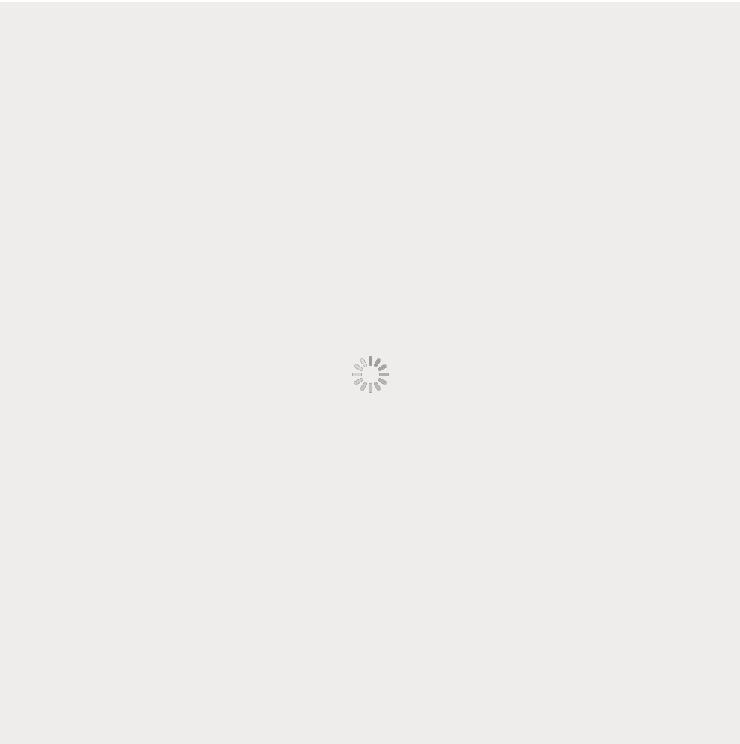
3.试验结果

2种液体状态下可以有效降解质粒的DNA去除剂在空气核酸清除实验中完全没有效果。我很期待能找到一种可以用于空气中核酸气溶胶污染去除的方案来彻底地解决核酸检测实验室的核酸气溶胶污染的问题，但是暂时没有找到这样的产品。我相信未来一定会有高性能的核酸去除剂能用于空气核酸去除。

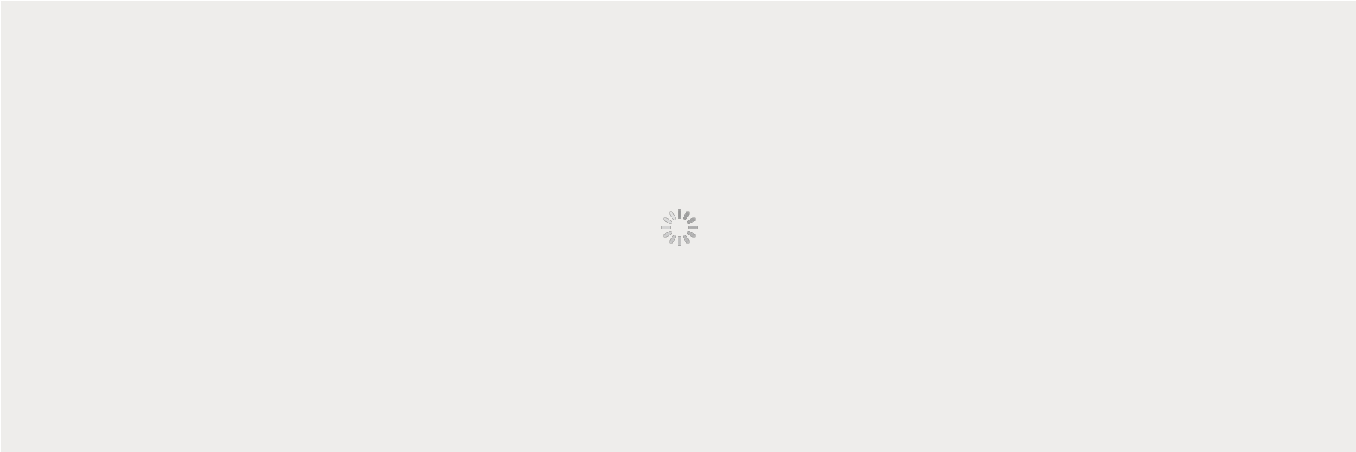
四、放弃幻想，预防为主

无论各个公司如何吹嘘自己的核酸去除产品，我建议广大从事核酸检测的朋友们放弃一劳永逸的幻想，认清现实：核酸气溶胶污染的空气清除难度很大，还是扎扎实实的做好预防措施和日常的监测工作吧！

预防污染见：[如何预防和处理PCR检测实验室的核酸污染？](#)
污染处理见：[案例分享：当PCR实验室发生污染时该怎么做？](#)
风险监测见：[PCR实验室的44个风险监测点](#)



请关注本公众号：原博士带你做检测



收录于话题 #案例分享·7个

上一篇

[多重qPCR的小bug：通道间的荧光干扰现象](#)

下一篇

[做qPCR，不要钻进“唯Ct值”的牛角尖！](#)

喜欢此内容的人还喜欢

GCB精选 | 全球土壤微生物存活时间
生态学者



Global Change Biology 综述|陆地生态系统中的微塑料:超越现有水平，将生态意外风险降至最低
土壤生态系统与环境污染

