

# 新冠核酸异常扩增曲线解析

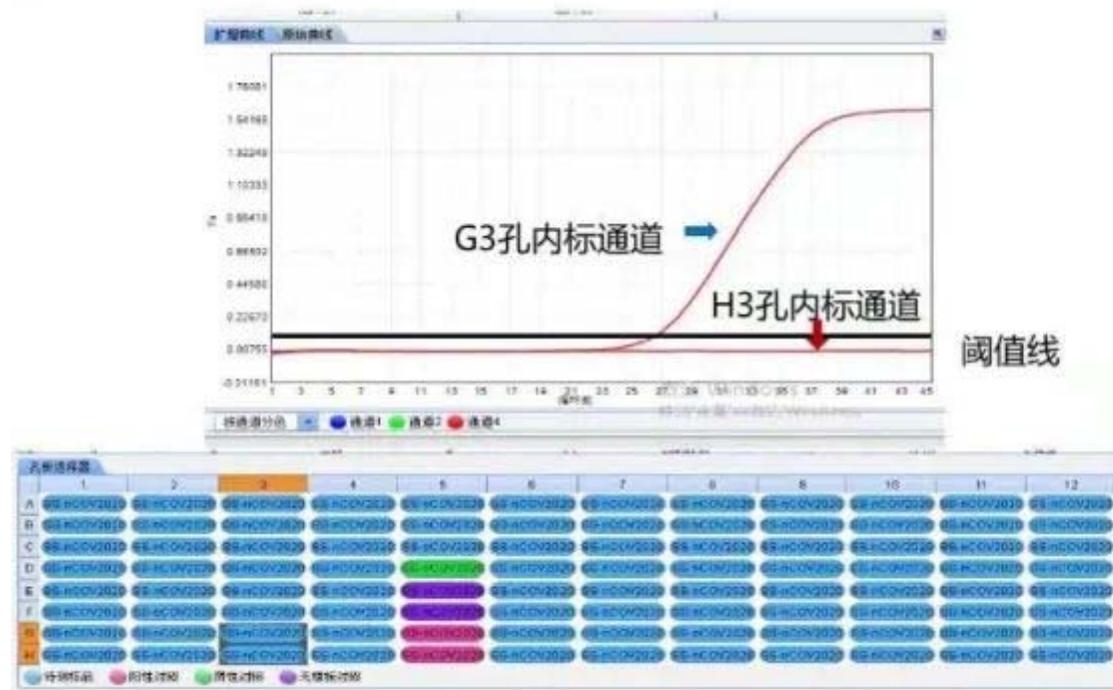
当下国内疫情反反复复，目前除了新冠疫苗，核酸检测算是抑制新冠病毒传染的主要手段，但我们的核酸检测并不能百分比精准，就如实验室核酸扩增曲线并非次次“完美”，易受到多种因素影响。

异常扩增曲线是核酸检测人员最为头疼的问题。**辨别扩增曲线形态、分析产生异常扩增曲线的原因是检测人员的必备技能。**

## 异常扩增曲线——内标

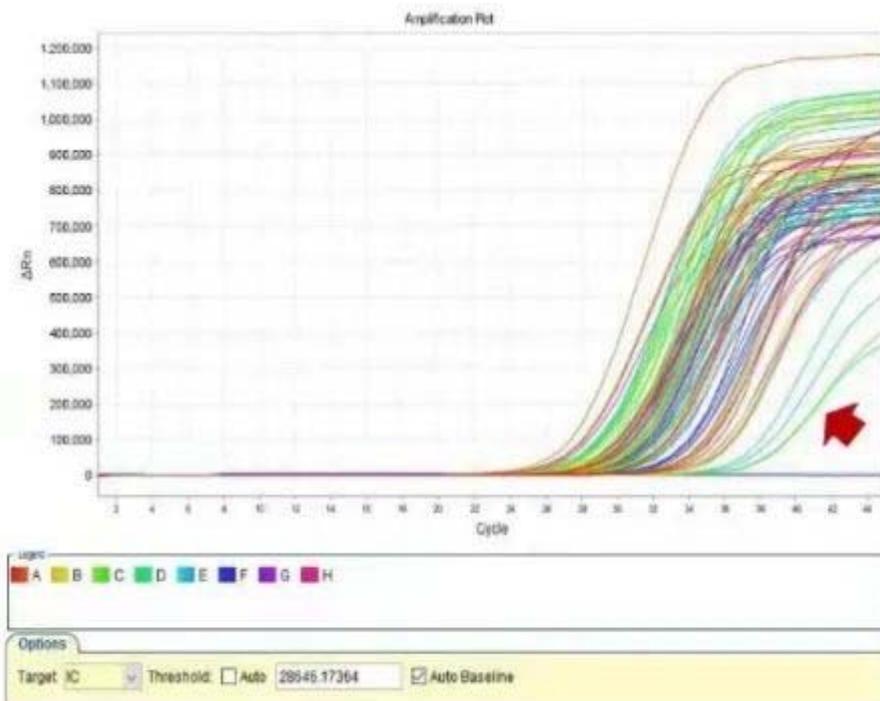
### 01 内标扩增曲线异常

正常的内标扩增曲线是实验有效性的基础，可反映样本质量、抽提和扩增效率。



【类型一】标本内标无S型扩增曲线

曲线特点：



【类型二】外源性内标呈离散型曲线

【类型一】某标本内标无 S 型扩增曲线。

【类型二】外源性内标呈离散型曲线。

### 原因分析：

1. 标本采样欠佳，没有刮取到足够的鼻咽部细胞。2. 标本保存不当，核酸降解。3. 标本加错位置或漏加。4. 提取失败：裂解液未混匀（外源性内标）、提取仪故障等。5. 扩增失败：漏加反应液、模板加错孔位、混入抑制扩增反应的干扰物等。

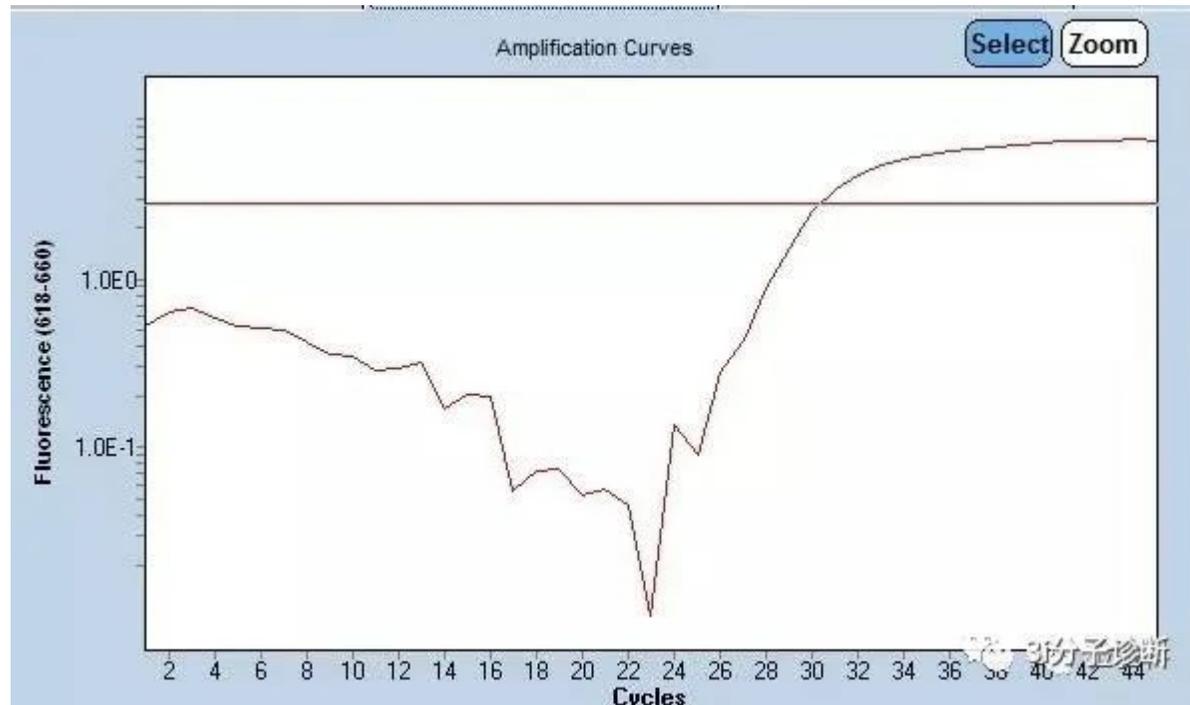
### 解决方案：

1. 重新采集样本；送检标本及时检测，室温放置不超过 4h。2. 按照规范化流程进行相关操作。

【注】内标扩增曲线异常，则该批或相应标本结果无效，需重新采样或重新检测。

## 异常扩增曲线——扩增曲线不平整

### 02 扩增曲线不平整，有向上或者向下的尖峰



### 原因分析：

(1) 仪器不稳定导致的扩增曲线异常（也可能突然停电或者电压不稳）。

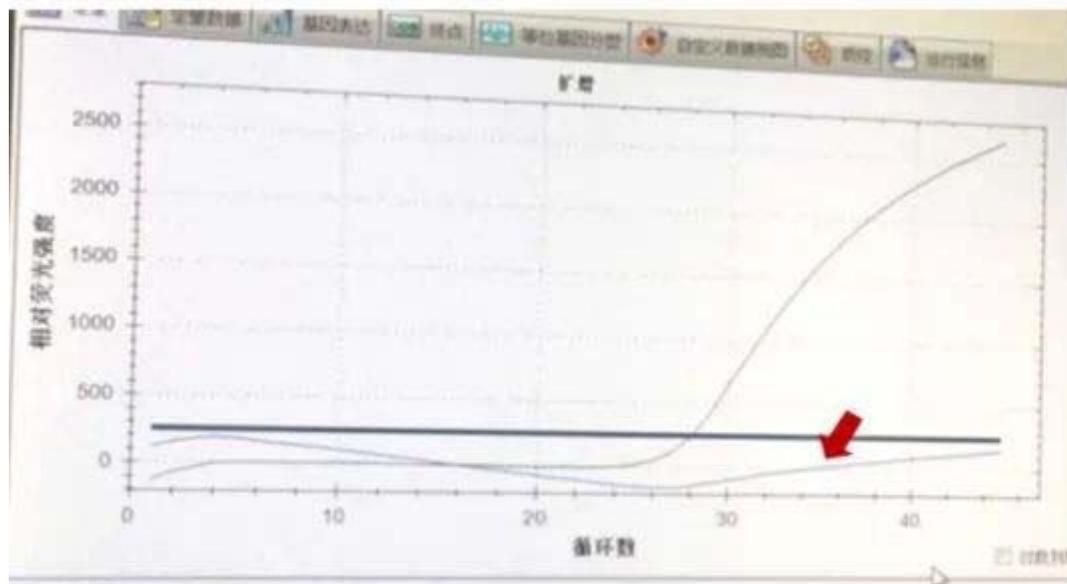
- (2) 尖峰向下，可能是卤素灯老化所致发射光源不稳定（指卤钨灯光源的激发器）。
- (3) 尖峰向上，考虑仪器或者孔位问题，还要考虑反应体系是否存有气泡。

### 解决方案：

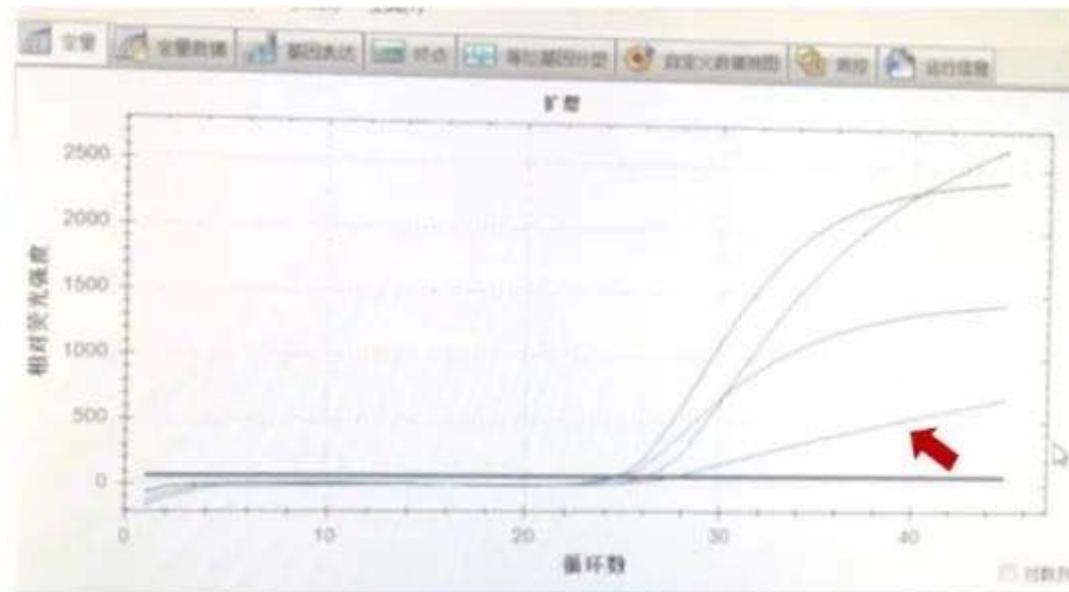
- (1) 检查仪器性能，检查实验室电压情况。
- (2) 定期仪器保养维修，避免配件老化问题出现。
- (3) 检查问题孔位，排除孔位问题。
- (4) 配制反应体系，分装避免产生大量气泡。模板加完，微孔板离心再扩增。

### 异常扩增曲线——基线设不当定

#### 03 基线设定不当的异常扩增曲线



软件默认基线设定的扩增曲线



设定适当基线后的扩增曲线

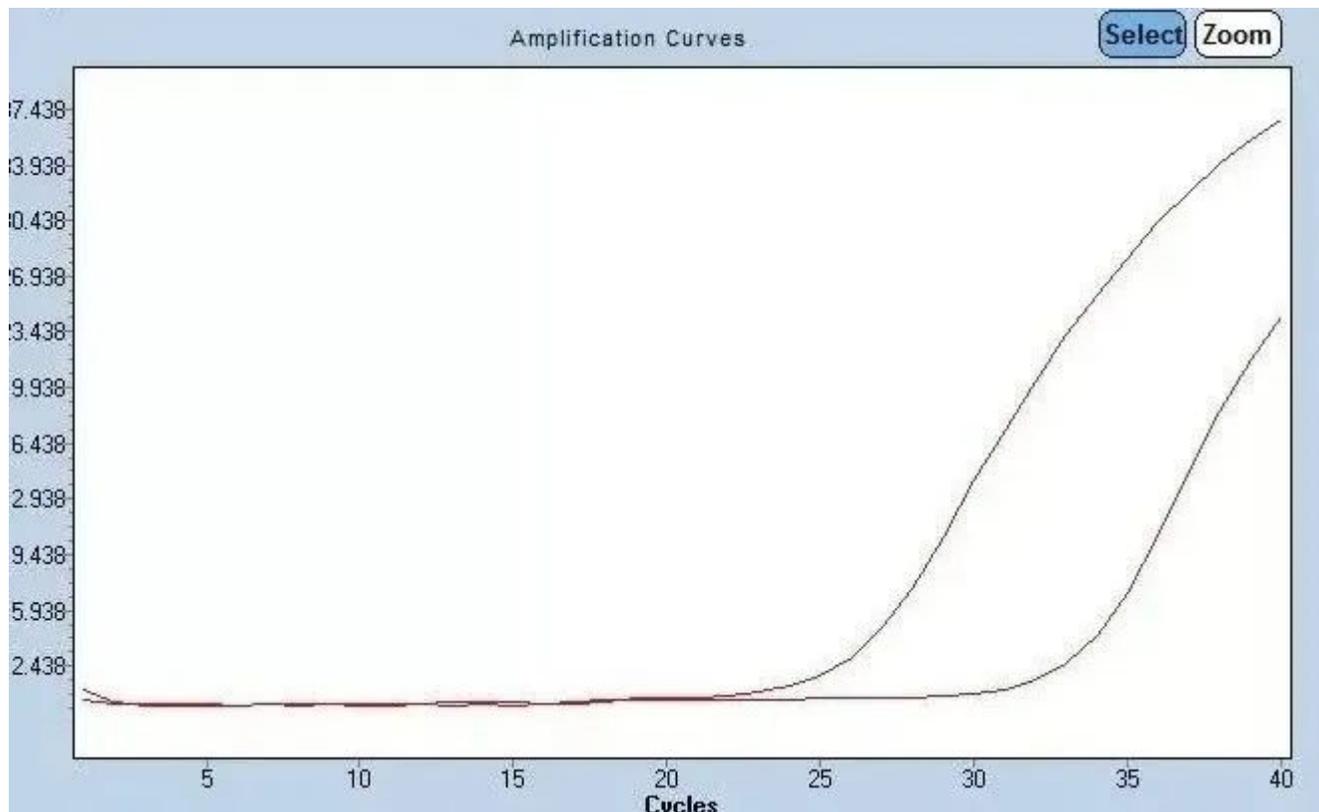
曲线特点：软件默认基线设定的扩增曲线呈波浪型，导致 Ct 值偏大，可能会被误判为阴性。

**原因分析：**软件默认基线设定不准确造成扩增曲线异常。

**解决方案：**根据检测试剂的要求设定适宜的基线。

## 异常扩增曲线——扩增曲线不完整

### 04 扩增曲线不完整



### 原因分析：

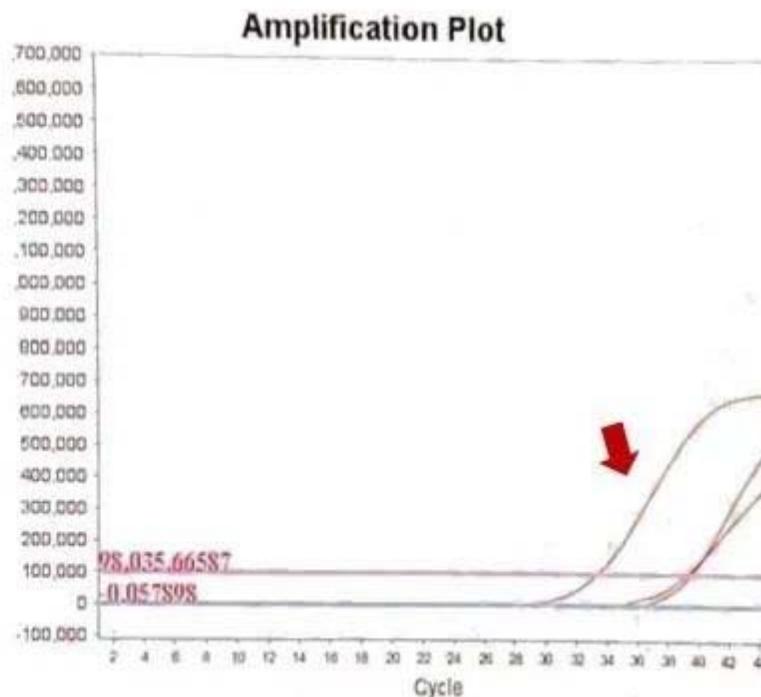
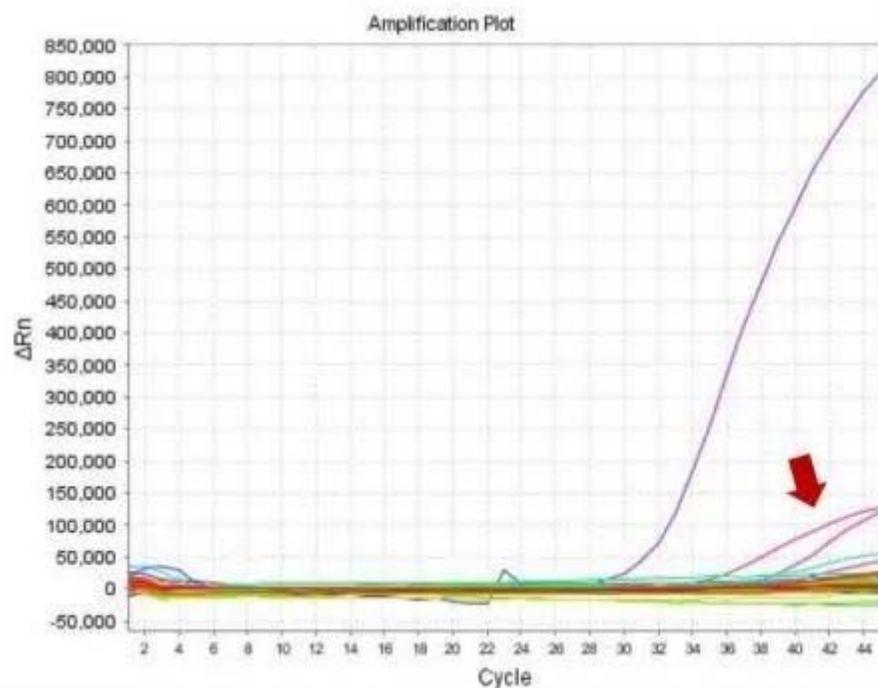
- (1) 模板污染导致降解，或者样本浓度低、加样量不准确导致扩增效率低。
- (2) 模板浓度太高，或者存在抑制成分。
- (3) 荧光染料浓度低，或者仪器问题荧光收集异常。
- (4) Taq 酶无活性或活性降低。
- (5) 试剂配制没充分混匀，分装不均匀。

### 解决方案：

- (1) 重新提取样本，排除提取效率变低，加样量不足因素。
- (2) 稀释模板，重新扩增。
- (3) 检查试剂，更换新试剂，双试剂检测。
- (4) 试剂配制充分混匀，分装准确。
- (5) 检查仪器。

异常扩增曲线——多个标本单靶翘尾

### 05 多个标本单靶标通道翘尾



曲线特点：多个标本出现单靶标通道的扩增曲线翘尾。

### 原因分析:

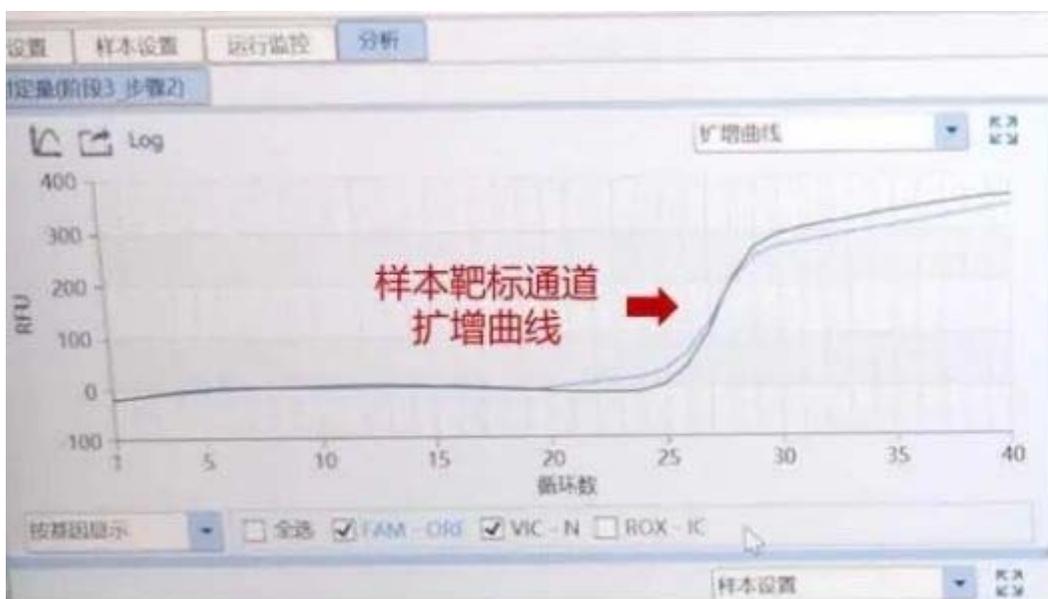
1. 反应液配制后保存不当, 如荧光探针断裂。2. 存在阳性质控污染或者其他荧光物质污染。3. 扩增试剂/耗材的批间差异导致非特异性扩增增加 (如试剂更新后  $Mg^{2+}$  浓度过高)。

### 解决方案:

1. 按照说明书要求保存配制的扩增反应液。2. 提取得到的核酸应及时进行后续处理, 否则及时封盖, 避免混入阳性质控或其他干扰物; 实验室每天按时清洁消毒以消除潜在的干扰因素。3. 试剂/耗材批号更换前应进行比对实验验证。

## 异常扩增曲线——S 型曲线

### 06 靶标通道呈低平 S 型曲线



样本靶标通道



样本靶标通道+弱阳性质控通道

**曲线特点:** 标本靶标通道呈低平且非典型 S 型扩增曲线, 标本与弱阳性质控的荧光强度存在显著差异。

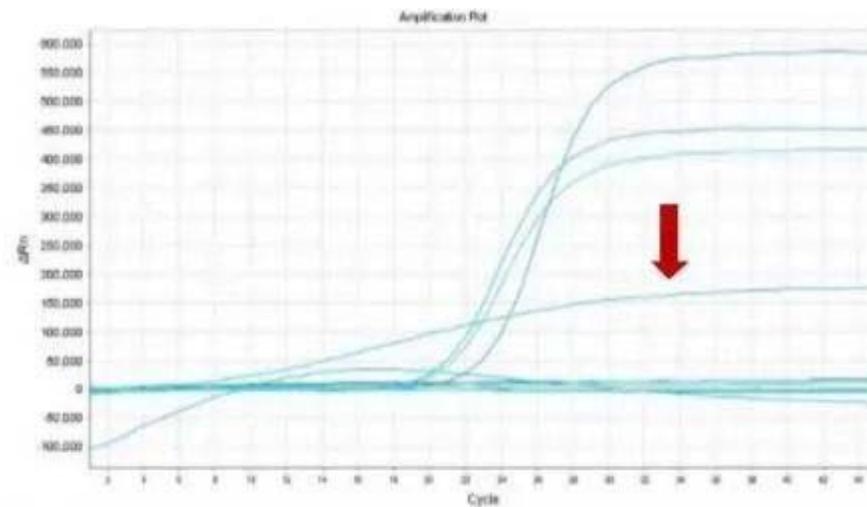
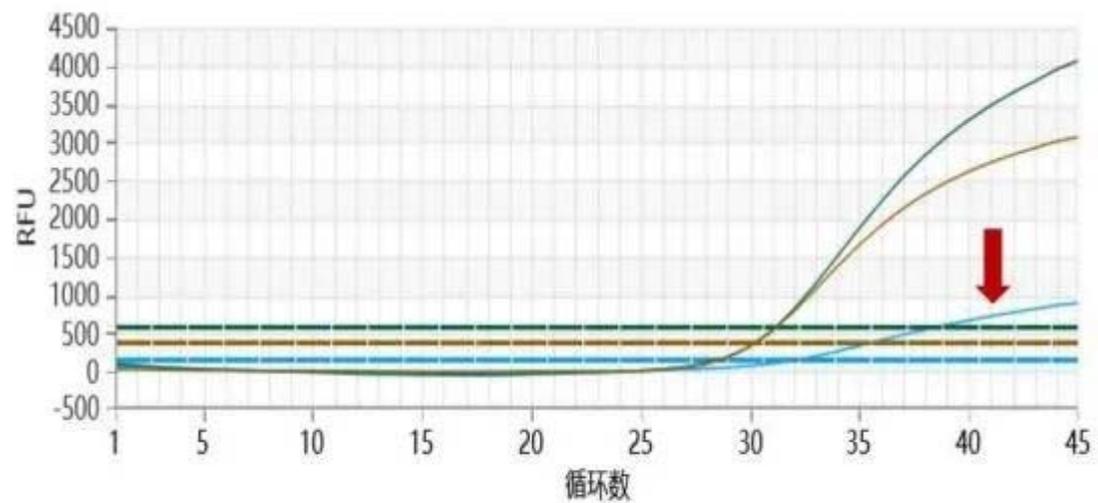
### 原因分析:

1. 标本存在干扰物质, 提取纯化不完全。

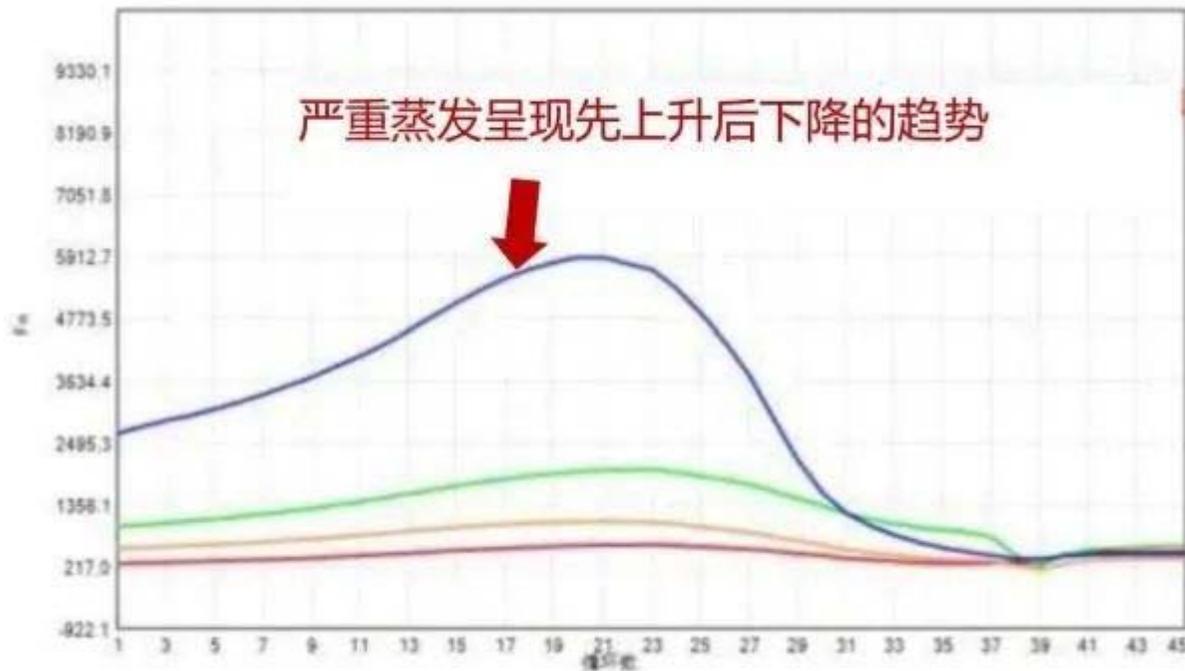
**解决方案:** 标本重新检测, 必要时可使用不同的检测试剂进行确认。

## 异常扩增曲线——蒸发

### 07 蒸发引起的异常扩增曲线



反应体系缓慢蒸发的扩增曲线呈斜向上



## 反应体系严重蒸发的扩增曲线呈山域型

**曲线特点：**反应体系蒸发，终体积减少，荧光强度产生变化导致阴性扩增曲线整体呈斜向上或山域型。

### 原因分析：

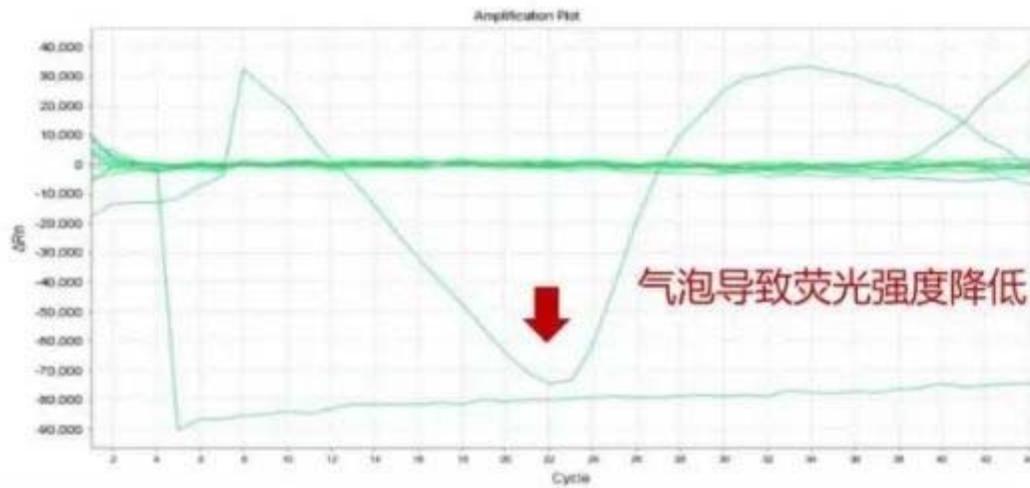
1. 在扩增过程中因热盖导致管盖爆裂/光学膜破裂。2. 未盖紧管盖/刮紧光学膜。3. 未使用配套/质量合格的耗材。

### 解决方案：

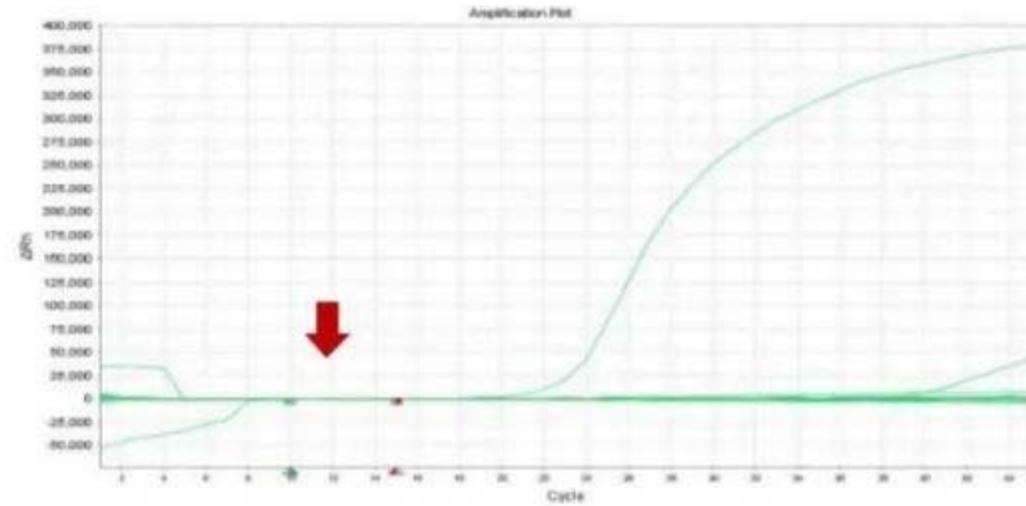
1. 定期检查扩增仪状态，确保热盖温度正常。2. 上机前盖紧管盖/刮紧光学膜。3. 调整基线可适当纠正蒸发引起的异常信号，有助于后续的扩增曲线判读。

## 异常扩增曲线——气泡

### 08 气泡引起的异常扩增曲线



气泡导致扩增曲线的曲折



适当调整基线后的扩增曲线

曲线特点：扩增曲线出现剧烈或明显曲折。

原因分析：反应体系内有大气泡形成折射，干扰荧光的采集。

解决方案：

1. 加样时减少气泡的产生，同时上机前可通过离心减少气泡。
  2. 调整基线可适当纠正气泡引起的异常信号，有助于后续的扩增曲线判读。
- 新冠核酸检测过程中每一个环节的操作都有可能产生异常扩增曲线，干扰结果判读。“人、机、料、规、环”这五个环节任何一项都不可小觑，只有这样才能保证新冠核酸的检测质量。