

• 综述 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2020.23.042

新型冠状病毒实验室特异性检测技术研究进展*

毛佳泉¹综述, 鲁彦^{2△}, 寇炜^{1▲}审校

1. 西北民族大学医学部, 甘肃兰州 730030; 2. 中国人民解放军 96604 部队医院检验科, 甘肃兰州 730030

关键词: 新型冠状病毒肺炎; 新型冠状病毒; 核酸; 抗体

中图分类号: R563

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2020)23-3526-04

新型冠状病毒肺炎(COVID-19)是由新型冠状病毒(SARS-CoV-2)感染引起的急性呼吸道传染病,以发热、干咳、乏力为主要表现。SARS-CoV-2 主要经呼吸道飞沫和密切接触传播,潜伏期 1~14 d,人群普遍易感^[1-4]。流行病学接触史、临床症状、肺部影像学特征性改变、实验室实时荧光定量反转录聚合酶链反应(RT-PCR)检测患者呼吸道分泌物等标本中 SARS-CoV-2 核酸是临床诊断 COVID-19 的主要依据^[5-8]。COVID-19 尚无特效治疗药物,因此早发现、早诊断、早隔离、早治疗是现阶段疫情防控的关键。通过基因测序、实时荧光定量 RT-PCR、环介导等温扩增或基因芯片检测病毒核酸,通过酶联免疫吸附试验(ELISA)、胶体金免疫层析法(GICA)、化学发光免疫分析技术(CLIA)检测抗体是目前检测 SARS-CoV-2 感染的主要方法。本文通过对 SARS-CoV-2 实验室特异性检测技术进行综述,以期为临床医生及科研工作者提供更好地防治策略和研究思路。

1 病毒分离培养与鉴定

培养和鉴定 SARS-CoV-2 是诊断 COVID-19 感染的金标准。ZHU 等^[9]将 4 例确诊患者的肺泡灌洗液(BALF)接种于人呼吸道上皮细胞(HAE),经过 3 次传代后,收集已出现细胞病变的 HAE 上清液,通过透射电镜观察和实时荧光定量 RT-PCR 技术进行检测,同时利用 HAE、Vero E6 和 Huh-7 细胞系分离病毒,以及无偏倚高通量全基因组测序发现了 SARS-CoV-2。ZHOU 等^[10]将 SARS-CoV-2 PCR 检测结果为阳性的 ICU 患者 BALF 标本离心、过滤、DMEM 稀释后接种到 Vero、Vero E6 和 Huh7 细胞系中,37 °C 孵育,其中 Vero E6 细胞在 48 h 后被感染,感染复数为 0.5。ZHOU 等^[10]通过透射电镜、中和试验和实时荧光定量 RT-PCR 技术、无偏倚高通量全基因组测序证实该病毒为 SARS-CoV-2。病毒的分离培养鉴定虽然是病原学诊断的金标准,但操作技术难度大,对实验室级别要求高,不符合现阶段 SARS-CoV-2 检测需求。

2 核酸检测

2.1 基因测序 应用 Illumina 和 nanopore 公司设

备和试剂对 3 例患者 BALF 标本和 HAE 病毒分离株基因组测序,获得 2 个近全长冠状病毒序列和 1 个全长冠状病毒序列,结果提示 SARS-CoV-2 序列与蝙蝠严重急性呼吸综合征(SARS)样冠状病毒(bat-SL-CoVZC45, MG772933.1)基因组有 86.9% 的核苷酸序列同源性^[9]。有研究者从 2 例患者 BALF 标本中提取 RNA 通过宏基因组测序(mNGS),即从所得的测序数据中删除包含有衔接子序列和低复杂区域的读段并参照人类基因组图谱删除人类的读段,将所有非人类和非重复序列的读段分别与参照的病毒数据库和非冗余蛋白质数据库进行对比测序,结果表明 mNGS 能够快速检出标本中具有唯一高丰度的病原体^[11]。WANG 等^[12]结合目标扩增、长读和实时纳米孔测序的优点首创纳米孔靶向测序(NTS)方法,该方法灵敏度远高于实时荧光定量 RT-PCR,能在 6~10 h 内检测出 SARS-CoV-2 和呼吸道合胞病毒、腺病毒等其他常见的呼吸道病毒,有利于快速判断 COVID-19 患者是否存在其他呼吸道病毒感染,对控制交叉感染和临床指导用药具有重大意义。基因测序技术具有灵敏度高等优势,有利于科研工作者及时发现病毒核酸是否发生变异,为临床诊治提供指导。

2.2 实时荧光定量 RT-PCR 技术 实时荧光定量 RT-PCR 技术是目前临床实验室检测核酸的主要方法。该检测技术根据 SARS-CoV-2 的 RNA 序列通过逆转录酶合成 cDNA 链,在人工设计的特异性引物下对核酸片段进行扩增,扩增完毕的核酸片段与 Taqman 探针特异性结合形成靶标基因片段后在 Taq 酶的 5'~3'核酸外切酶活性作用下水解, Taqman 探针的荧光基团远离淬灭基团,最终靶标基因片段发出荧光信号,根据荧光信号阈值测定所需循环数(Ct 值)^[13-14]。实时荧光定量 RT-PCR 技术检测 SARS-CoV-2 主要靶向 SARS-CoV-2 基因组中的开放读码框 lab(ORF1ab)基因和核壳蛋白 N^[15]。CHU 等^[16]根据 SARS-CoV-2 基因组中 ORF1ab 区和 N 区开发了 2 种单步实时荧光定量 RT-PCR 检测方法,结果表明 N 区的测定灵敏度是 ORF1ab 区的 10 倍,推测采集的临床标本中表达亚基因组的 mRNA 病毒感染了

* 基金项目:西北民族大学本科科研创新项目(XBMU-BYL19180)。

△ 通信作者, E-mail: lu73free@aliyun.com; ▲ 共同通信作者, E-mail: 707905355@qq.com。

部分细胞导致标本中含有大量的 N 基因拷贝,使得 N 区的测定灵敏度高于 ORF1ab 区。CHU 等^[16]建议将 N 区作为初筛测定,ORF1ab 区的作为确诊测定。CORMAN 等^[17]在缺乏 SARS-CoV-2 病毒分离株的条件下,根据 SARS-CoV-2 与 SARS 冠状病毒的密切遗传相关性,以及 Genbank 数据库中获得的部分或完整的 SARS-CoV-2 序列,人工合成特异性引物,通过实时荧光定量 RT-PCR 技术检测 SARS-CoV-2 基因组内的 E、N、RdRP 基因,结果表明 RdRP 基因测定灵敏度最高,E 基因次之,N 基因稍低。此外,CORMAN 等^[17]设计的特异性 RdRP-SARSr-P2 探针能够有效区分 SARS 冠状病毒(SARS-CoV)与 SARS-CoV-2。CORMAN 等^[17]建议在常规检测中将 E 基因作为一线初筛靶区,RdRP 基因用于验证性检测靶区。SHIRATO 等^[18]应用巢式实时荧光定量 RT-PCR 法检测 SARS-CoV-2,从患者各类标本中提取 SARS-CoV-2 总 RNA,在逆转录酶作用下通过随机引物和寡核苷酸引物合成第一链 cDNA,随后进行第 1 次 PCR 扩增,取 1 μ L PCR 扩增产物在相同的 PCR 热循环条件下通过第 2 对引物进行第 2 次嵌套 PCR 扩增,将 PCR 产物进行纯化测序。巢式实时荧光定量 RT-PCR 法检测 SARS-CoV-2 不仅能够减少错误扩增还具有与实时荧光定量 RT-PCR 法同等的灵敏度和特异度。为防止临床检测标本污染出现假阳性结果,可通过带有 VIC 荧光基团标记的探针(VIC-AGC TAG CGC ATT GGA TCT CG-MGB)判断标本是否被污染。此外,有多位研究者针对 SARS-CoV-2 的 S 基因设计了特异性引物,通过实时荧光定量 RT-PCR 成功检测到 SARS-CoV-2^[10,18]。XIE 等^[19]对 19 例疑似患者的口咽拭子、血液、尿液和粪便标本进行实时荧光定量 RT-PCR 检测,口咽拭子标本阳性检出率与粪便标本阳性检出率接近,而血液和尿液标本检测结果均为阴性,提示粪口传播可能是 SARS-CoV-2 传播途径之一。根据 XIE 等^[19]研究结果显示,咽拭子、血液、尿液和粪便标本中 SARS-CoV-2 的核酸检测总阳性检出率仅为 47.4%,认为对疑似 COVID-19 患者进行单项核酸检测有较高的漏诊率,建议将 CT 作为核酸检测的重要补充检查手段。对 4 例 COVID-19 患者的痰标本和咽拭子检测表明,痰标本中 SARS-CoV-2 基因扩增信号高于咽拭子,提示在对 COVID-19 患者行实验室检测时咽拭子核酸检测阴性不能完全作为排除标准,应采集痰等标本进一步检测^[20]。

截至 2020 年 4 月 25 日,国家药品监督管理局(NMPA)共批准了之江、捷诺、卓诚惠生等 12 家 SARS-CoV-2 荧光 PCR 法核酸检测试剂盒,其中中华大生物核酸检测试剂盒靶向 ORF1ab 区,圣湘、明德、金豪、硕世、达安核酸检测试剂盒靶向 ORF1ab、N 双区,之江、伯杰、捷诺、卓诚惠生、迈克生物、复星长征核酸检测试剂盒靶向 ORF1ab、N 和 E 3 个区,在检测

标本时应严格按照各公司试剂盒要求进行检测以减少误差。实时荧光定量 RT-PCR 技术用于 SARS-CoV-2 检测对现阶段 COVID-19 的早发现、早隔离、早鉴别、早诊断、早治疗具有重要意义^[21-22],符合现阶段我国临床检验工作需要,因此我国将实时荧光定量 RT-PCR 检测结果作为确诊 SARS-CoV-2 感染的重要依据。最近有报告指出,实时荧光定量 RT-PCR 技术针对 SARS-CoV-2 检出准确率仅 30.0%~50.0%^[23],在后续 SARS-CoV-2 检测工作中规范标本采集,多部位多标本联合检测,严格把控试剂盒质量,提高实验室质量控制等是提高核酸检测准确率的关键措施^[13]。

2.3 恒温扩增技术

2.3.1 环介导等温扩增(LAMP)

LAMP 是一种新型的高效等温核酸扩增技术,多用于 DNA 和 RNA 核酸片段扩增,具有指数扩增、高特异度、高灵敏度等特点^[24-25]。LAMP 能够在 4~6 种不同的引物和具有链置换活性的 DNA 聚合酶作用下快速恒温扩增核酸片段,识别 6 种不同的靶序列^[26-27]。在检测 SARS-CoV-2 的过程中,通过优化 LAMP 实验条件,可以获得不低于甚至高于 PCR 的检测效果。POON 等^[28]以 SARS-CoV-2 基因组中 ORF1ab 作为检测靶区,通过 LAMP 检测获得与 PCR 技术一致的阳性检出率和灵敏度。HONG 等^[29]基于 LAMP 技术开发了一种通过光度计实时监测浑浊度的单管单步加速实时定量技术(RT-LAMP),通过对临床标本检测显示 RT-LAMP 检测灵敏度是实时荧光定量 RT-PCR 法的 100 倍,检测限为 0.01 pfu,可应用于 SARS-CoV 的早期快速诊断。YU 等^[26]开发了一种快速、简便的 RT-LAMP 技术(iLACO),将 LAMP 系统与混合反应中的 pH 指示剂耦合,通过反应颜色改变进行识别。结果表明,iLACO 反应时间与实时荧光定量 RT-PCR 循环数一致,但通过增大标本检测体积、提高引物浓度、升高反应环境温度可提高 iLACO 检测速度,并能区分 SARS-CoV-2 与其他冠状病毒和流感病毒,具有针对 SARS-CoV-2 的检测特异性。国内也开发出 SARS-CoV-2 的 RT-LAMP 检测试剂盒,可对血液、唾液、痰液、病毒空气等多种标本进行检测,可鉴别流感、SARS-CoV、MERS-CoV 等病毒,可用于临床患者初筛、人群密集场所空气中病毒监测等^[5]。优思达公司研制的实时荧光恒温扩增检测试剂盒,将 LAMP 技术与实时荧光技术相结合,目前已获 NMPA 审批,用于 SARS-CoV-2 核酸检测。此外,武汉中帜公司也已开发出金探针层析法 RNA 恒温扩增检测试剂盒。LAMP 技术检测速度快、灵敏度高、准确率高,适用于现阶段临床检验工作,对 COVID-19 患者的早期发现和后期治疗具有重要意义。

2.3.2 滚环扩增技术(RCA)

RCA 是一种在恒温条件下以类似微生物环状 DNA 分子复制方式扩增 DNA 或 RNA 核酸片段的技术^[30]。RCA 技术能够在

少量的临床呼吸道标本中高效地检测出 SARS-CoV^[27]。RCA 技术相较于 PCR 技术能够更好地避免假阳性结果同时具有灵敏度高、成本低等优点, RCA 技术有望应用于 SARS-CoV-2 检测。

2.4 基因芯片技术 基因芯片将特异性探针标记的扩增产物 cDNA 装载至基因芯片载体孔内,与固定在微阵列上的固相寡核苷酸杂交,经过一系列清洗步骤去除游离 DNA,通过检测杂交信号分析被检标本中核酸的类别^[14,23]。基因芯片技术能够快速、高通量检测病毒核酸。目前已开发出能够快速检测呼吸道多种病毒的全新微流控芯片,该芯片能够在 1.5 h 内一次性检测出包括 SARS-CoV-2 在内的 19 种常见的呼吸道病毒(参考网站: http://www.tsinghua.org.cn/xxfb/xxfbAction.do?ms=ViewFbxxDetail_detail0&xxid=14749756&lmid=4000419),此外我国其他研究团队也已开发出了检测 SARS-CoV-2 的基因芯片^[14]。基因芯片在 SARS-CoV-2 检测中具有快速、高通量的优势,但灵敏度较低、检测成本高且需要专业配套设备,难以在基层临床实验室推广。

3 免疫血清学检测

3.1 ELISA 应用 ELISA 检测抗体或抗原对 SARS-CoV-2 辅助诊断具有重要意义。有研究者将与 SARS-CoV-2 核衣壳蛋白有 92% 相似的来源于重症急性呼吸综合征相关的冠状病毒(SARSr-CoV) Rp3 的交叉反应性核衣壳蛋白作为抗原开发了抗 SARSr-CoV IgG 和 IgM ELISA 试剂盒,可用于检测 SARS-CoV-2^[9]。检测结果表明,在采样第 1 天 COVID-19 患者的 IgG 和 IgM 效价均较低甚至无法检测,在采样的第 5 天所有患者的病毒抗体效价均升高,其中 IgG 阳性检出率从 50% 上升到 81%, IgM 阳性检出率从 81% 上升到 100%, 高于 PCR 的阳性检出率^[9]。将血清学和核酸检测联合可以提高 COVID-19 的阳性检出率^[9]。采用纯化的重组 SARS-CoV-2 N 蛋白(rNPs)作为包被抗原,间接 ELISA 法检测 82 例确诊和 58 例疑似 COVID-19 病例血浆标本抗体,同时与 PCR 结果进行比较,结果表明,症状出现后的 1~3 d 内 PCR 阳性检出率大于 90%, 6 d 时下降至 80% 以下(95% CI: 57.1%~95.7%), 14 d 时降至 50% 以下(95% CI: 23.7%~59.5%)^[10]。IgM 阳性检出率随着症状出现后天数呈逐渐上升的趋势, 5.5 d 后 IgM ELISA 的阳性检出率开始高于 PCR。研究还显示单次 PCR 的阳性检出率仅 51.9%, PCR 联合 IgM 检测能显著提高阳性检出率^[10]。此外,也可通过 ELISA 技术对被测标本中的病毒抗原成分进行定性或定量检测。目前,日本富士公司研发的 SARS-CoV-2 抗原检测试剂盒已获日本药品医疗器械评价中心审批,该试剂盒能在 15~30 min 内检测出 SARS-CoV-2,但精准度要低于 PCR。ELISA 具有标本采集处理简捷、操作技术要求低、灵敏度高、特异度强、检测成本低等优点,适用于基层医院批量检测。

尽管如此,由于存在交叉反应等造成的假阳性, NMPA 批准的 SARS-CoV-2 抗体检测试剂盒建议将抗体检测作为 SARS-CoV-2 核酸检测阴性疑似病例的补充检测手段或在疑似病例的诊断中与核酸检测联检,但不作为 SARS-CoV-2 感染确诊和排除的依据,不适用于一般人群的筛查。

3.2 GICA GICA 是一种以胶体金作为标记物,用于检测抗原抗体复合物的新型免疫标记检测技术。邓杰伦等^[31]报道 GICA 检测 SARS-CoV-2 IgM 和总抗体的特异度均大于 90%, 符合率均大于 70%。目前 NMPA 已批准诺唯赞、英诺特、珠海丽珠等多家公司的 GICA IgM/IgG 抗体检测试剂盒投入临床使用。和 ELISA 比较, GICA 具有更加快速、经济、操作简便等优势,对 COVID-19 的流行病学调查具有一定的意义^[31]。

3.3 CLIA CLIA 是将免疫反应系统和化学发光分析系统相结合的一种免疫测定技术。唐鹏等^[32]将 191 例确诊和疑似 COVID-19 患者血清标本分为持续阳性组、阳性转阴组、疑似组,同时采用 CLIA 和 GICA 检测,结果表明, GICA 和 CLIA 检测 SARS-CoV-2 特异性抗体临床特异度为 100%。持续阳性组 GICA 和 CLIA 比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。阳性转阴组和疑似组 CLIA 检测总抗体的阳性检出率明显优于 GICA。迈克生物、博奥赛斯等公司研发的 CLIA IgG、IgM 抗体检测试剂盒已获得 NMPA 应急审批。在 COVID-19 的诊疗过程中, CLIA 测定总抗体优于 GICA,且能够定量。

4 展 望

SARS-CoV-2 传染性强,目前尚未研究出治疗 COVID-19 的特效药物,预防 SARS-CoV-2 感染的疫苗仍处于临床研究阶段,因此对 SARS-CoV-2 感染者的早发现、早诊断、早隔离是现阶段控制疫情蔓延的关键。实验室检测技术在对 SARS-CoV-2 感染者早期筛查的工作中尤为重要。检测方法中实时荧光定量 RT-PCR、恒温扩增、基因芯片和测序等技术各具优点,对临床诊断 SARS-CoV-2 和判断疗效方面具有重要意义。ELISA、GICA 等血清学的检测方法具有操作简洁、耗时短等优点,适用于流行病学监测、核酸检测的补充或可用于基层防控工作。核酸检测联合血清学检测能够提高阳性检出率,对现阶段疫情防控工作具有重大意义。

参考文献

- [1] HE F, DENG Y, LI W N. Coronavirus disease 2019 (COVID-19): what we know? [J]. J Med Virol, 2020, 92(7): 719-725.
- [2] LI Q, GUAN X, WU P, et al. Early transmission dynamics in Wuhan, China, of novel coronavirus-infected pneumonia [J]. N Engl J Med, 2020, 382(13): 1199-1207.
- [3] WANG D, HU B, HU C, et al. Clinical characteristics of 138 hospitalized patients with 2019 novel coronavirus-in-

- fected pneumonia in Wuhan, China[J]. JAMA, 2020, 323(11):1061-1069.
- [4] 魏微霄,李青峰. 新型冠状病毒感染的临床表现及其实验室检测技术进展[J]. 国际检验医学杂志, 2020, 41(8): 988-992.
- [5] CHAN J F, KOK K H, ZHU Z, et al. Genomic characterization of the 2019 novel human-pathogenic coronavirus isolated from a patient with atypical pneumonia after visiting Wuhan[J]. Emerg Microbes Infect, 2020, 9(1): 221-236.
- [6] HOFFMANN M, KLEINE-WEBER H, KRÜGER N, et al. The novel coronavirus 2019 (2019-nCoV) uses the SARS-coronavirus receptor ACE2 and the cellular protease TMPRSS2 for entry into target cells [EB/OL]. bioRxiv, 2020 [2020-04-08]. <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2020.01.31.929042v1>.
- [7] HUI D S, AZHAR E I, MADANI T A, et al. The continuing 2019-nCoV epidemic threat of novel coronaviruses to global health-the latest 2019 novel coronavirus outbreak in Wuhan, China[J]. Int J Infect Dis, 2020, 91(1): 264-266.
- [8] 中华人民共和国国家卫生健康委员会. 关于印发新型冠状病毒肺炎诊疗方案(试行第七版)的通知(国卫办医函[2020]184号)[EB/OL]. (2020-03-04)[2020-04-08]. <http://www.nhc.gov.cn/zyygj/s7653p/202003/46c9294a7dfe4cef80dc7f5912eb1989.shtml>.
- [9] ZHU N, ZHANG D Y, WANG W L, et al. A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019[J]. N Engl J Med, 2020, 382(8): 727-733.
- [10] ZHOU P, YANG X L, WANG X G, et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin[J]. Nature, 2020, 579(7798): 270-273.
- [11] CHEN L, LIU W, ZHANG Q, et al. RNA based mNGS approach identifies a novel human coronavirus from two individual pneumonia cases in 2019 Wuhan outbreak[J]. Emerg Microbes Infect, 2020, 9(1): 313-319.
- [12] WANG M, FU A, HU B, et al. Nanopore target sequencing for accurate and comprehensive detection of SARS-CoV-2 and other respiratory viruses[J]. Small, 2020, 16(32): e2002169.
- [13] 王达,董梁,卿松,等. 新型冠状病毒核酸检测中的思维误区[J]. 中华医院感染学杂志, 2020, 30(8): 1167-1170.
- [14] 王露莹,陈品儒,郑国湾,等. 新型冠状病毒检测方法的研研究进展[J]. 现代药物与临床, 2020, 35(3): 411-416.
- [15] 中华人民共和国国家卫生健康委员会. 国家卫生健康委办公厅关于印发新型冠状病毒肺炎防控方案(第五版)的通知(国卫办疾控函[2020]156号)[EB/OL]. (2020-02-21)[2020-04-08]. <http://www.nhc.gov.cn/jkj/s3577/202002/a5d6f7b8c48c451c87dba14889b30147.shtml>.
- [16] CHU D K W, PAN Y, CHENG S M S, et al. Molecular diagnosis of a novel coronavirus (2019-nCoV) causing an outbreak of pneumonia[J]. Clin Chem, 2020, 66(4): 549-555.
- [17] CORMAN V M, LANDT O, KAISER M, et al. Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR[J]. Euro Surveill, 2020, 25(3): 2000045.
- [18] SHIRATO K, NAO N, KATANO H, et al. Development of genetic diagnostic methods for novel coronavirus 2019 (nCoV-2019) in Japan[J]. Jpn J Infect Dis, 2020, 73(4): 304-307.
- [19] XIE C B, JIANG L X, HUANG G, et al. Comparison of different samples for 2019 novel coronavirus detection by nucleic acid amplification tests[J]. Int J Infect Dis, 2020, 93(1): 264-267.
- [20] 陈炜,张春阳,朱颖,等. 4例新型冠状病毒感染病例咽拭子与痰标本病毒核酸检测的比较[J]. 中国人兽共患病学报, 2020, 36(5): 354-358.
- [21] 鲁彦,居军,李德红. 核酸和血清学指标结合,多类型联检,提高新型冠状病毒检出率[J]. 检验医学与临床, 2020, 17(9): 1161-1163.
- [22] 郭晓波,蔺京,来春艳,等. 新型冠状病毒与实时荧光 RT-PCR 核酸检测[J]. 陕西医学杂志, 2020, 49(3): 264-266.
- [23] 许金和,王水良,张胜行,等. 新型冠状病毒核酸检测方法[J/OL]. 国际检验医学杂志, 2020(2020-03-03)[2020-04-08]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1176.R.20200303.1428.002.html>.
- [24] NOTOMI T, OKAYAMA H, MASUBUCHI H, et al. Loop-mediated isothermal amplification of DNA[J]. Nucleic Acids Res, 2000, 28(12): E63.
- [25] MORI Y, NAGAMINE K, TOMITA N, et al. Detection of loop-mediated isothermal amplification reaction by turbidity derived from magnesium pyrophosphate formation [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2001, 289(1): 150-154.
- [26] YU L, WU S S, HAO X W, et al. Rapid detection of COVID-19 coronavirus using a reverse transcriptional loop-mediated isothermal amplification (RT-LAMP) diagnostic platform[J]. Clin Chem, 2020, 66(7): 975-977.
- [27] SHEN M, ZHOU Y, YE J, et al. Recent advances and perspectives of nucleic acid detection for coronavirus[J]. J Pharm Anal, 2020, 10(2): 97-101.
- [28] POON L L, LEUNG C S, TASHIRO M, et al. Rapid detection of the severe acute respiratory syndrome (SARS) coronavirus by a loop-mediated isothermal amplification assay[J]. Clin Chem, 2004, 50(6): 1050-1052.
- [29] HONG T C, MAI Q L, CUONG D V, et al. Development and evaluation of a novel loop-mediated isothermal amplification method for rapid detection of severe acute respiratory syndrome coronavirus[J]. J Clin Microbiol, 2004, 42(5): 1956-1961.
- [30] 张友春,汪睿,朱永良. 新型冠状病毒实验室检测方法研究进展[J]. 预防医学, 2020, 32(4): 361-365.
- [31] 邓杰伦,王远芳,王婷婷,等. 胶体金免疫层析法检测 SARS-CoV-2 血清抗体的临床价值探讨[J]. 国际检验医学杂志, 2020, 41(8): 964-966.
- [32] 唐鹏,赵自武,刘颖娟,等. 化学发光和胶体金法检测新型冠状病毒特异性抗体比较及其临床意义[J]. 武汉大学学报(医学版), 2020, 41(4): 517-520.