

COVID-19感染诊断的检测技术和最新进展

巴勒莫·赖, 巴罗文·克里斯那古马, 印地拉尼·古玛迪克斯, 伊迪亚·卡鲁纳赛佳, 维嘉野·卡鲁纳赛佳
印度孟买病毒研究所

摘要: COVID-19是一种由SARS-CoV-2引起的疾病,能够在人类中引起轻度至重度感染。自2019年12月在中国首次出现以来,疫情在全球迅速蔓延。尽管为控制该疾病做出了相当大的努力,但该病毒仍在许多国家继续流行,临床表现不同。为了遏制这种流行病,涉及准确诊断、流行病学、监测和预防的协作方法至关重要。然而,使用快速技术进行正确诊断起着至关重要的作用。随着COVID-19病例发病率的增加,准确和早期检测SARS-CoV-2是有效预防和管理COVID-19病例以及遏制其传播的关键。RT-qPCR检测被认为是早期检测病毒的黄金标准,但由于其技术复杂性,该协议限制了用作床边检测的应用。为了应对这些挑战,已经开发了几种POC检测方法,以促进集中测试实验室之外的COVID-19诊断,并以最短的周转时间加速临床决策。因此,在本报告中,我们回顾了可用于诊断和有效预防COVID-19的不同核酸和血清学技术。

由严重急性呼吸系统综合征冠状病毒2 (SARS-CoV-2) 引起的2019年冠状病毒病 (COVID-19) 持续大流行已在全球范围内构成严重的公共卫生威胁,越来越多的国家有数百万人处于危险之中。尽管没有临床上批准的COVID-19抗病毒药物和疫苗,但仍在尝试对几种已知的抗病毒药物及其组合进行临床试验,以及在确诊COVID-19的患者中开发疫苗。本综述重点介绍COVID-19诊断和治疗的最新方法。我们总结了抗病毒药物、疫苗、抗SARS-CoV-2抗体治疗和恢复期血浆疗法等常规疗法的最新进展,这些疗法目前正在针对COVID-19进行广泛的研究和临床试验。还讨论了针对COVID-19的基于纳米颗粒的治疗和诊断方法的发展。我们评估了有关该主题的最新文献数据,并对当前的发展和未来前景进行了总结。

关键词: COVID-19; SARS-CoV-2; RT-qPCR; RT-LAMP; 诊断; 血清学

Detection technologies and recent developments in the diagnosis of COVID-19 infection

Ballamoole Rai, Praveen Krishna Kumar, Indrani Kumar Deekshit, Iddya Karunasagar, Vijaya Karunasaga
Institute of Virus Research, Mumbai, India

Abstract: COVID-19 is a disease caused by SARS-CoV-2 capable of causing mild to severe infections in humans. Since its first appearance in China in December 2019, the pandemic has spread rapidly throughout the world. Despite considerable efforts made to contain the disease, the virus has continued its prevalence in many countries with varying degrees of clinical manifestations. To contain this pandemic, collaborative approach involving accurate diagnosis, epidemiology, surveillance, and prophylaxis is essential. However, proper diagnosis using rapid technologies plays a crucial role. With increasing incidence of COVID-19 cases, the accurate and early detection of the SARS-CoV-2 is need of the hour for effective prevention and management of COVID-19 cases as well as to curb its spread. RT-qPCR assay is considered to be the gold standard for the early detection of virus, but this protocol has limited application to use as bedside test because of its technical complexity. To address these challenges, several POC assays have been developed to facilitate the COVID-19 diagnosis outside the centralized testing laboratories as well to accelerate the clinical decision making with a least turnaround time. Hence, in this report, we review different nucleic acid-based and serological techniques available for the diagnosis and effective prevention of COVID-19.

The ongoing pandemic of coronavirus disease 2019 (COVID-19) caused by the severe acute respiratory syndrome

coronavirus 2 (SARS-CoV-2) has made a serious public health threat worldwide with millions of people at risk in a growing number of countries. Though there are no clinically approved antiviral drugs and vaccines for COVID-19, attempts are ongoing for clinical trials of several known antiviral drugs, their combination, as well as development of vaccines in patients with confirmed COVID-19. This review focuses on the latest approaches to diagnostics and therapy of COVID-19. We have summarized recent progress on the conventional therapeutics such as antiviral drugs, vaccines, anti-SARS-CoV-2 antibody treatments, and convalescent plasma therapy which are currently under extensive research and clinical trials for the treatment of COVID-19. The developments of nanoparticle-based therapeutic and diagnostic approaches have been also discussed for COVID-19. We have assessed recent literature data on this topic and made a summary of current development and future perspectives.

Keywords: COVID-19, SARS-CoV-2, RT-qPCR, RT-LAMP, Diagnosis, Serology

引言:

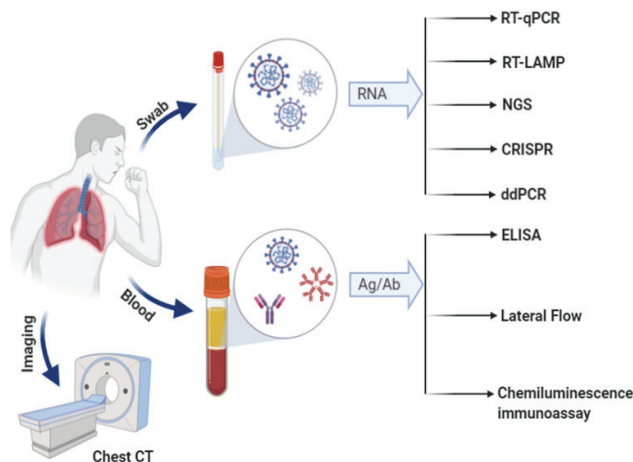
2019 年冠状病毒病 (也称为 COVID-19) 的爆发是由新型严重急性呼吸综合征冠状病毒 2 (SARS-CoV-2) 引起的, 于 2019 年 12 月 31 日在中国首次发现。在很短的时间内, SARS-CoV-2 已经席卷全球, 2020 年 1 月 30 日, 世界卫生组织 (WHO) 正式宣布 COVID-19 疫情为国际关注的突发公共卫生事件 (Karunasagar 和 Karunasagar 2020)。COVID-19 导致的感染病例和死亡人数正在以惊人的速度上升, 截至 2020 年 7 月 22 日, 200 个国家的确证病例超过 1, 47, 65, 256 例, 死亡人数超过 6, 12, 054 人 (死亡率约为 3.7%)。

冠状病毒是有包膜的阳性单链 RNA 基因组 (26 至 32 kb) 病毒, 属于巢状病毒目冠状病毒科。迄今为止, 该病毒有四个属, 即 α (α)、 β (β)、 γ (γ) 和 δ (δ), 已被识别。然而, 新型 SARS-CoV-2 属于 β 冠状病毒属, 其 RNA 基因组大小为 29.9 kb。SARS-CoV-2 与两种源自蝙蝠的 SARS 样冠状病毒 (bat-SL-CoVZC45 和 bat-SL-CoVZXC2) 的核苷酸序列同一性为 88%, 与 SARS-CoV 的相似性约为 79%, 与 MERS 的相似性为 50% -CoV。越来越多的报道表明, SARS-CoV2 的基因组在地理传播过程中发生了进化变化和多样化。对全球 SARS-CoV-2 分离株的泛基因组分析揭示了几个基因组区域的鉴定, 这些区域具有增加的遗传变异和不同的突变模式。我们组对印度 SARS-CoV-2 的基因组特征显示, 在印度流行的 SARS-CoV-2 存在遗传变异, 该基因型广泛以 G614 基因型为主, 与 COVID-19 的病死率密切相关, 对有效的印度 COVID-19 病例的预防和管理。根据最近的证据, 观察到 SARS-CoV-2 病毒主要通过吸入或接触受感染的飞沫在人与人之间传播, 潜伏期为 2 至 14 天。SARS-CoV-2 感染具有广泛的临床表现, 从无症状到有症状不等, 包括呼吸道症状、发烧、呼吸急促、咳嗽、呼吸困难和病毒性肺炎, 严重时会出现肺炎、严重

急性呼吸综合征、心力衰竭、肾功能衰竭, 甚至死亡。然而, 与 COVID-19 相关的主要死亡原因是呼吸衰竭, 其次是感染性休克、肾衰竭、出血和心力衰竭。这篇综述对不同核酸的表现提供了独特的最新和全面概述目前可用于诊断 COVID-19 的基于血清学的技术。本综述中提供的信息希望帮助医生和临床微生物学家选择适合 COVID-19 诊断和临床管理的技术。

1.COVID-19 的诊断

新型 SARS-CoV-2 (或 COVID-19) 的临床表现因个体而异, 从无症状到急性呼吸窘迫综合征和多器官衰竭。因此, 准确诊断 COVID-19 具有挑战性。COVID-19 的常规临床诊断主要基于流行病学史、临床表现, 并通过计算机断层扫描 (CT) 扫描、核酸扩增试验扩增试验 (NAAT) 和血清学技术等多种实验室检测方法确诊。图中提到了描述可用于诊断 COVID-19 的各种分析方法的图形摘要, 下面将讨论它们的技术细节。对于 SARS-CoV-2 感染的早期筛查或诊断, 通常建议使用鼻咽和/或口咽拭子、支气管肺泡灌洗液、痰液、支气管抽吸物或血液等样本。



有许多病毒, 特别是严重的急性呼吸综合征冠状病毒 (SARS-CoV) 和中东呼吸综合征冠状病毒 (MERS-

CoV), 也会引起上下呼吸道感染, 临床症状重叠; 因此, 很难将 SARS-CoV-2 感染与其他引起呼吸道感染的病毒区分开来。因此, 实验室检查以及临床和流行病学评估对于准确和快速诊断病原体是非常重要的。这也可以提高检疫效率。

•CT检查

胸部计算机断层扫描(CT)目前是最早用于检测肺炎相关疾病的实时成像技术之一。它在早期被广泛用于检测 SARS 和 MERS 的肺部异常, 并且发现比 X 射线更敏感。最近, 该技术也被用于医院 COVID-19 的诊断。然而, 该技术有其自身的局限性。例如, 在香港对 64 名患者进行的一项回顾性研究中, 胸部 X 光片的敏感性为 69%, 而 RT-PCR 为 91%。在 RT-PCR 阳性病例中, 20% 的胸片未显示任何肺部异常。相反, 在另一项研究中, 75% 的 RT-PCR 阴性病例显示胸部 CT 结果, 其中 48% 可能为 COVID19 阳性。此外, 仅胸部计算机断层扫描可能会导致假阳性结果, 因为它可能与流感、SARS 和 MERS 等其他感染重叠。考虑到所有这些要点, 大多数卫生委员会最近已取消胸部 CT 扫描作为诊断 COVID-19 疑似病例的标准。然而, 通过结合使用胸部 CT 扫描和 RT-PCR 技术, 可以有效地克服诊断中的这些模糊性。此外, 胸部 CT 成像也可以成为临床环境中监测 COVID-19 进展和治疗效果的有用工具。

•核酸扩增试验

核酸扩增试验(NAAT)是最敏感的检测方法, 通常是检测早期病毒感染的首选检测方法, 因为病毒血症通常在疾病过程的早期出现。已经开发了不同类型的 NAAT 检测, 例如逆转录酶实时 PCR(RT-qPCR)、环介导等温扩增检测(RT-LAMP)、微阵列和高通量测序, 以实现快速准确 COVID-19 的诊断。然而, NAAT 需要高质量的 SARS-CoV-2 RNA。

逆转录酶实时聚合酶链反应 基于探针的 RT-qPCR 被认为是检测 SARS-CoV-2 的金标准方法, 也是目前许多国家使用最广泛的检测方法之一, 用于根据 WHO 推荐的人群筛查和 CDC。第一次爆发后, 已经部署了几种 RT-qPCR 检测方法检测临床样本中的 SARS-CoV-2。RT-qPCR 检测针对 SARS-CoV-2 的 RNA 依赖性 RNA 聚合酶(RdRp)基因、核衣壳(N)基因、包膜(E)基因、刺突(S)基因和 ORF1b 或 ORF8 区域等不同基因而开发基因组。世卫组织建议针对 E 基因的基于 RT-qPCR 的检测用于筛查 SARS-CoV-2, 然后进行针对 RdRp 基因的确证性检测。而 CDC 提倡 RT-qPCR 检测基

于两个核衣壳蛋白基因(N1、N2)。

此外, 在 RT-qPCR 反应中包含两个或多个基因(如 E、RdRp 和 ORF-1b-nsp14)可能会增强对真阳性的识别。然而, 由于全世界疑似病例的持续增加, 检测更多 SARS-CoV-2 基因以获得确认结果将既费力又耗时。这可以通过靶向病毒基因组的高度特异性区域来轻松避免, 该区域甚至可以检测到非常低浓度的病毒。Alagarasu 等人最近的一份报告。揭示了与基于 RdRp 的测定相比, 基于 ORF-1b-nsp14 的测定具有更好的性能。同样, 据报道, 与基于 RdRp 的检测相比, 基于 RdRp 解旋酶的改良 qPCR 检测在检测 SARS-CoV-2 阳性病例方面非常成功。一些研究还表明, 基于 RdRp 的检测灵敏度较低可能是由于反向引物的第 12 位存在简并碱基(Lim 等人 2020; Vogel 等人 2020)。上述所有基于核酸的技术的检测方案复杂且昂贵, 需要高端的实验仪器、检测试剂和熟练的研究人员; 因此, 它不能在资源有限的环境中部署为即时诊断或床边测试。此外, 测试通常需要 4-6 小时才能完成, 但运送临床样本的后勤要求需要超过 24 小时的周转时间, 这会延迟报告。此外, RT-qPCR 的结果很大程度上取决于病毒 RNA 的质量, 在某些情况下, 测试用例测试需要重复 2 到 3 次才能进一步确认。大多数检测的检测限在 3.4 到 4.5 log₁₀ 拷贝/mL 之间。尽管大多数测试使用两个基因靶标, 但基因的阳性被认为是足够的, 这已被纳入一些国家病例定义中, 例如在加拿大(http://health.gov.on.ca/en/pro/programs/publichealth/coronavirus/docs/2019_case_definition.pdf)。检测结果取决于样本, 据报道, 支气管肺泡灌洗液、痰液和鼻拭子的检出率最高。尽管存在一些缺点, 但使用 RT-qPCR 诊断 COVID-19 仍被认为是金标准。

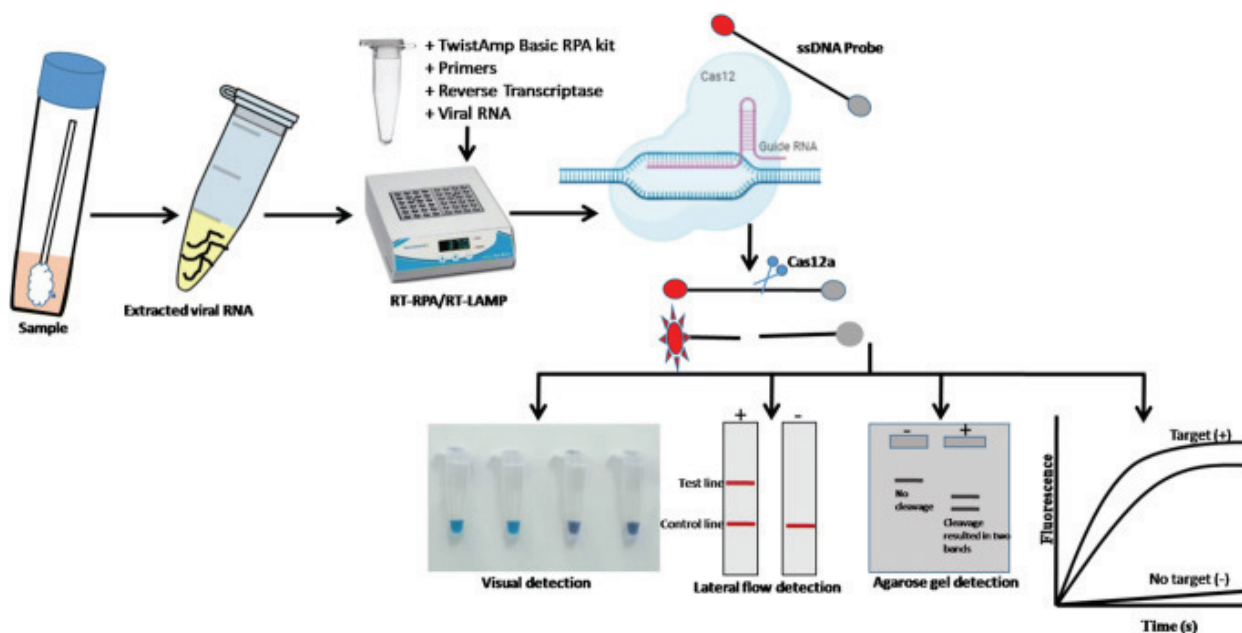
逆转录环介导等温扩增 环介导等温扩增(LAMP)是一种基于 PCR 的核酸扩增, 能够在等温条件下非常高效、快速地特异性扩增靶序列。该方法依赖于使用识别目标基因上特定四个或六个区域的四六种不同引物和通过使用链置换机制在恒温下延长链的 Bst DNA 聚合酶。这种方法的扩增可以在传统的水浴/加热块中进行, 扩增产物可以通过添加荧光染料进行视觉识别。由于 SARS-CoV-2 是一种 RNA 病毒, 因此需要逆转录步骤(RT-LAMP)。疫情爆发后, 已开发并验证了几种 RT-LAMP 检测方法可用于 COVID-19 的即时诊断。公园等人。开发了 RT-LAMP, 用于检测针对病毒 Nsp3 区域的 SARS-CoV-2。该技术可以检测到 SARS-CoV-2 RNA 的每个反应低至 100 个拷贝。然而, 日本的另一个研究小组评估

了一种市售的 RT-LAMP (Loopamp® 2019-SARS-CoV-2 检测试剂盒; <http://loopamp.eiken.co.jp/>), 它显示出高灵敏度和检测限在 35 分钟内达到 1.0×10^1 拷贝/ μ L。此外, 基于 RT-LAMP 的方法-iLACO (基于等温 LAMP 的 COVID-19 方法) 使用 Yu 等人开发的 6 种引物靶向 ORF1ab 基因。(2020 年) 发现每个反应检测到 SARS-CoV-2 低至 10 个拷贝。同样, 还开发了 RT-LAMP 与基于聚集规则间隔短回文重复 (CRISPR) 的 DETECTOR 技术的组合, 用于快速检测 (30-40 分钟) 临床样本中的 SARS-CoV-2, 检测限为每微升 10 份。尽管开发了许多基于 RT-LAMP 的分子技术, 但由于交叉反应性和分析缺乏敏感性, 很少有商业化。

然而, 像 RT-LAMP 这样的技术不需要熟练的人员

或高端设备。但是, 重要的是要寻找 SARS-CoV-2 的多个靶标以最佳利用该技术。由于 RT-LAMP 的准确性也会受到病毒引物结合区突变的影响, 因此在设计引物时需要避开这些突变位点, 以提高检出率。

基于 CRISPR 的诊断 定期间隔的短回文重复序列作为基因组编辑工具在科学界广受欢迎, 但现在正慢慢在诊断应用中获得潜力。CRISPR 需要与目标互补序列结合的引导 RNA, 并且核酸酶在精确位点切割。CRISPR 组件用于生物传感来自不同病原体 (包括细菌和病毒) 的核酸。在病毒核酸检测的情况下, 一个称为引导 RNA (gRNA) 的小 RNA 片段将依次与病毒基因的目标片段结合。然后, 特殊的 CRISPR 相关核酸酶, 如 cas9、cas12 或 cas13 将用于切割目标分子。



许多研究人员尝试使用基于 CRISPR 的检测系统来检测 SARS-CoV-2。例如, 张等人的一项研究。(2020b) 使用基于 CRISPR 的检测系统 (SHERLOCK) (特异性高灵敏度 Enzymatic Reporter unLOCKing) 和等温重组酶聚合酶扩增 (RPA) 可以在 1 小时内检测到每毫升的单个分子。在该技术中, cas13 用于检测 SARS-CoV-2 的 S 和 Orf1ab 基因的扩增产物。Sherlock Biosciences 开发的这种检测方法成为市场上第一个获得 FDA 批准的 CRISPR 技术。另一家 CRISPR 诊断公司 Mammoth Biosciences 将 RT-LAMP 与基于 CRISPR-cas12 的技术相结合, 可在 40 分钟内检测出每微升 10-100 个病毒 RNA 拷贝。迄今为止, 这是 Mammoth Biosciences 开发的用于检测 SARS-CoV-2 的最快测试。该技术针对 SARS-CoV-2 的包膜基因, 可以通过荧光或/通过横向流动法分析结果。此外,

丁等人。(2020) 开发了一种快速、超灵敏的多合一双 CRISPR/Cas12a (AIOD-CRISPR) 检测方法, 该检测利用针对病毒 N 基因的两个区域的双 crRNA, 检测限为 4.6-11 个拷贝/微升。此外, 最近开发的床边测定法 FELUDA (使用 FnCas9 进行现场部署的核碱基检测和鉴定) 利用 FnCas9 可以检测低至 110 飞摩尔的病毒核酸。尽管所有这些先进的分子诊断方法都显示出有希望的结果, 但仔细验证这些工具以实现其有效的现场应用非常重要。

基于试剂盒的核酸扩增试验和 TrueNAT 基于试剂盒的核酸扩增试验 (CBNAAT) 是一种使用 GeneXpert 技术诊断结核病 (TB) 的技术。这种基于试剂盒的核酸扩增是一种全自动扩增系统, 它利用实时 PCR。然而, 由于 COVID-19 病例突然增加, 印度医学研究委员会 (ICMR) 已批准使用 CBNAAT 检测 COVID-19 病

例 (https://www.icmr.gov.in/pdf/covid/实验室/Cepheid_Xpert_Xpress_SARS-CoV2_advisory_v2.pdf)。该技术分别针对 SARS-CoV-2 的 E 基因和 N2 基因进行筛选和确认。另一种基于核酸的测试称为 TrueNAT 靶向 E 基因用于筛查和 RdRp 基因用于确认 COVID-19 病例也已获得 ICMR 批准。该技术主要使用基于芯片的工具, 测试时间长达 1 小时。

除了上述所有分子技术外, 对 COVID-19 感染患者的临床标本进行新一代测序将允许快速识别 SARS-CoV-2 和其他导致继发性/共感染的病原体, 这些病原体已知会提高感染的严重程度 SARS-CoV-2 症状。宏基因组方法不仅有助于病原体检测, 还可以提供遗传信息, 从而进一步加深对病毒进化、分子流行病学和接触者追踪的理解。此外, 基因测序使我们能够评估 SARS-CoV-2 的基因突变率; 此信息对于确定抗病毒和疫苗功效非常有用。

Illumina COVIDSeq 是美国食品药品监督管理局 (US-FDA) 批准的基于扩增子的基于 NGS 的检测平台, 用于从疑似 COVID-19 患者采集的呼吸道样本中定性检测 SARS-CoV-2。该检测方法利用来自 ARTIC 多重 PCR 方案 (Itokawa et al. 2020) 的不同组引物和探针与 Illumina 测序技术相结合。COVIDSeqtest 在 NOVASeq 上单次运行最多可容纳 3072 个样本, 周转时间为 12 小时 (<https://www.illumina.com/products/by-type/clinical-research-products/covidseq.html>)。同样, Thermo Fischer Scientific 推出了 Ion AmpliSeq SARS-CoV-2 研究小组, 该小组有助于分析 SARS-CoV-2 基因组并提供用于监测病毒进化的高通量工作流程。该研究小组由两个扩增子池组成, 范围从 125 到 275 bp, 针对 99% 以上的 SARS-CoV-2 基因组 (<https://thermofisher.mediaroom.com/2020-05-06-Rapid-COVID-19-基因组-测序-艾滋病-爆发-调查>)。该检测需要 1 ng 病毒 RNA。

牛津纳米技术引入了长读长测序平台, 该平台展示了分析创新相对于目前现有的基因组测序方法的巨大优势。摩尔等人。已经展示了基于 MinIon 的扩增子和宏基因组测序在识别 SARS-CoV-2 和其他与 COVID-19 疾病相关的微生物中的应用 (Moore 等人, 2020)。王等人的研究。已经报道了在 10 小时内同时从呼吸道标本中对 SARS-CoV-2 和其他病原体进行纳米孔靶向测序 (NTS) (Wang 等人, 2020b)。开发的方法显示出相当高的灵敏度, 每毫升样品检测 10 个病毒拷贝。由于该技术旨在放大日志读取序列, 因此重要的是要考虑该技术在从高度

降解的样本中检测 SARS-CoV-2 基因组短片段方面的局限性。

最近, FDA 批准了 Bio-Rad Laboratories 开发的用于诊断 COVID-19 的 SARS-CoV-2 微滴数字 PCR (ddPCR) 试剂盒。所开发的检测方法检测到的遗传标记 N1 和 N2 低至 0.260 至 0.351 拷贝/ μ L。发现该检测方法在病毒载量通常较低的感染早期检测病毒方面非常成功。

·血清学检测

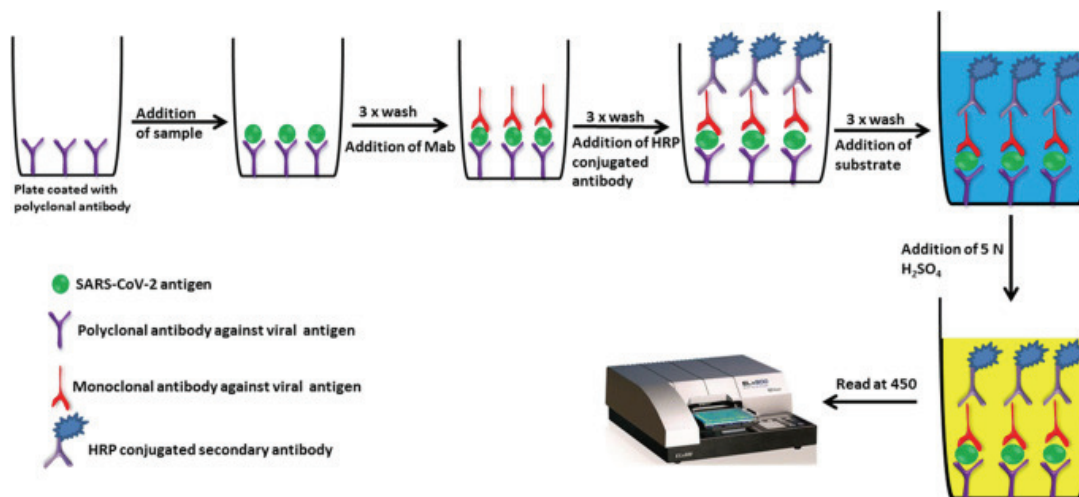
检测受感染个体的病毒抗体是疾病监测中最重要的诊断方法之一。尽管 RT-qPCR 是检测 SARS-CoV-2 活跃病例最成熟的技术, 但病毒 RNA 在发病 14 天后几乎无法检测到; 此外, 由于病毒样本处理不当也可能出现假阴性结果。这些挑战需要开发基于检测病毒感染产生的人类抗体的简单检测试剂盒。基于抗体的免疫诊断背后的基本原理是通过酶联免疫吸附试验 (ELISA) 检测针对病毒感染 (IgG 和 IgM) 和/或病毒抗原产生的抗体。研究表明, 患者在 3 至 6 天后可以检测到抗原特异性抗体, 并且可以在感染的后期检测到 IgG。这些测试的应用能够提供有关活动和过去感染的信息, 并且可以在资源有限的实验室中加速分析数千个样本。此外, 它可以用于疾病监测计划, 以更好地了解社区中的感染率。尽管血清学检测能够提供有关活动性感染和既往感染的信息, 但它在确认 SARS-CoV-2 特异性抗体对捕获过去感染的反应方面的效率已得到公认。在中国进行的研究表明, 与有症状的 COVID-19 患者相比, 无症状组的病毒特异性抗体滴度显著降低。在有症状的 COVID-19 患者中, 检测 IgM 和 IgA 抗体的中等持续时间为 5 天, 而 IgG 在 14 天内检测到。在症状出现 5.5 天后, IgM ELISA 的检测效率高于 RT-qPCR。IgM 抗体的存在表明最近接触过病毒感染, 而 IgG 抗体表明以前接触过 SARS-CoV-2 病毒感染。因此, 免疫诊断分析对于支持开发针对 COVID-19 的疫苗也非常关键。这进一步有助于确定没有活动性感染的人的感染程度。鉴于对诊断 COVID-19 感染的快速检测的巨大需求, 世界各地的研发公司已经推出了许多灵敏度不同的快速诊断。

·酶联免疫吸附测定

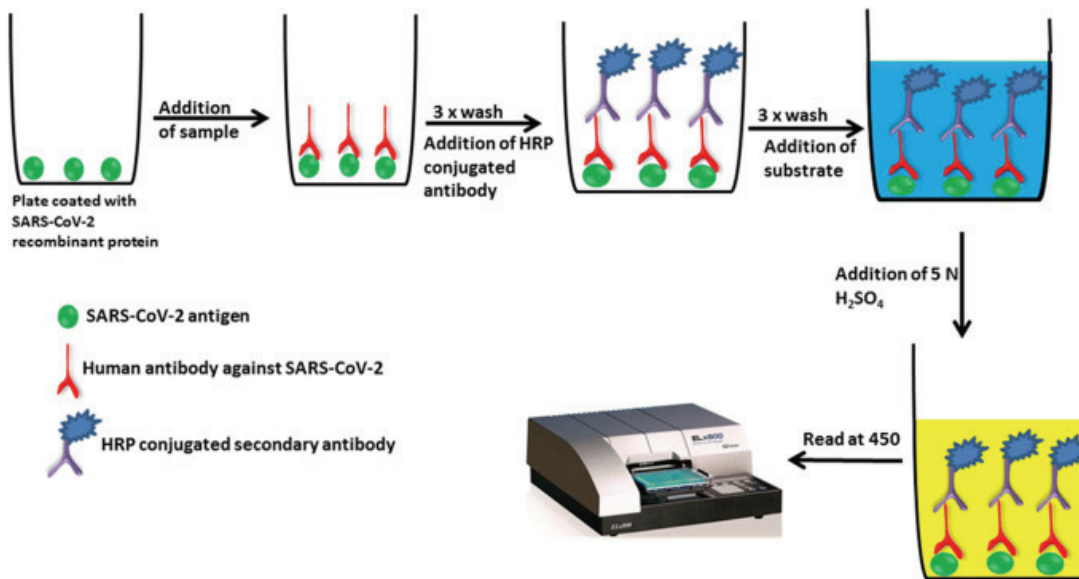
有几种基于 ELISA 的方法具有高水平的可重复性和持久的敏感性, 这使得该测试成为诊断各种传染病的绝佳工具。测试可以是定性或定量的, 周转时间约为 1-5 小时。最近, 由 Epitope Diagnostics Inc 开发的基于 IgG 和 IgM 的 ELISA 试剂盒 (EDITTM 新型冠状病毒 COVID-19 ELISA 试剂盒) 用于检测 SARS-CoV-2 感染。EDITTM

新型冠状病毒 COVID-19 IgM ELISA 试剂盒利用基于微量滴定板的 ELISA 上的“IgM 捕获”方法对患者血清中的 COVID-19 IgM 抗体进行定性测量。在该测定中，将测试样品添加到预涂有抗人 IgM 特异性抗体的微量滴定板中。“抗-hIgM”抗体和 COVID-19 IgM 抗体的免疫复合物将通过 HRP 标记的重组 COVID-19 抗原检测。在 EDI™ 新型冠状病毒 COVID-19 IgG ELISA 试剂盒的情况下，该测试利用涂有 SARS-CoV-2 重组核衣壳蛋白的 ELISA 板来检测测试样本中是否存在针对 SARS-CoV-2

的人 IgG。EDI™ 新型冠状病毒 COVID-19 ELISA 试剂盒的临床验证表明，在 RT-PCR 确认的 COVID-19 患者中具有高“真阳性”。在印度，浦那国家病毒学研究所与 Zydus Diagnostics 合作开发了一种本土的基于 IgG 的 ELISA (COVID KAVACH ELISA)，用于检测 COVID-19 的抗体。COVID KAVACH ELISA 的初步验证显示在检测 SARS-CoV-2 感染方面具有高灵敏度和特异性。除了上述 ELISA 试剂盒外，市场上很少有其他 ELISA 试剂盒可用于通过分析 IgM 和 IgG 抗体来诊断 SARS-CoV-2 感染。



用于检测 SARS-CoV-2 抗原的夹心 ELISA 法概述



间接 ELISA 法检测人抗 SARS-CoV-2 抗原抗体的概述

结论

目前，一系列基于核酸和抗原/抗体的测试可用于检测 SARS-CoV-2 感染。虽然基于核酸的测试或抗原检测测试用于诊断目的，但抗体检测测试可用于评估病毒暴露或人群的血清监测。基于核酸的测试和抗原/抗体检

测测试的灵敏度差异很大。大多数基于核酸的检测依赖于使用两个基因靶点，但在一些国家，单一靶点检测被认为是足够的。即使是基于核酸的检测结果也取决于在支气管肺泡灌洗液、痰液和鼻拭子中检出率最高的样本。但这可能取决于感染的阶段。在无症状和症状前的个体

中, 通常使用鼻拭子或痰液。目前, RT-qPCR 仍然是检测 SARS-CoV-2 感染的一线和金标准技术。然而, 由于基于实验室的分子检测能力有限和周转时间长, 我们建议使用 RT-LAMP 和其他等温扩增技术等较新的快速即时检测技术作为筛查的替代检测方式。包括印度在内的人口稠密国家的 SARS-CoV-2 感染。基于芯片 (基于核酸) 的测试已经过性能验证, 并在印度广泛使用。与基于核酸的测试相比, 抗原检测测试的灵敏度较低, 阴性结果需要通过 RT-PCR 或其他基于核酸的测试重新确认。然而, 即时检测仍在开发中, 经过验证后, 这些即时检测可能会在不久的将来推出。

参考文献:

- [1] Azhar M, Phutela R, Ansari AH, Sinha D, Sharma N, Kumar M, Aich M, Sharma S, Rauthan R, Singhal K, Lad H, Patra PK, Makharia G, Chandak GR, Chakraborty D, Souvik M (2020) Rapid, field-deployable nucleobase detection and identification using FnCas 9. *bioRxiv* 10.1101/2020.04.07.028167
- [2] Broughton JP, Deng X, Yu G, Fasching CL, Servellita V, Singh J, Miao X, Streithorst JA, Granados A, Sotomayor-Gonzalez A, Zorn K, Gopez A, Hsu E, Gu W, Miller S, Pan CY, Guevara H, Wadford DA, Chen JS, Chiu CY. CRISPR-Cas12-based detection of SARS-CoV-2. *Nat Biotechnol.* 2020;38:870 – 874. doi: 10.1038/s41587-020-0513-4.
- [3] Bundschuh C, Egger M, Wiesinger K, Gabriel C, Clodi M, Mueller T, Dieplinger B. Evaluation of the EDI enzyme linked immunosorbent assays for the detection of SARS-CoV-2 IgM and IgG antibodies in human plasma. *Clin Chim Acta.* 2020;509:79 – 82. doi: 10.1016/j.cca.2020.05.047.
- [4] Cai XF, Chen J, Li Hu J, Long QX, Deng HJ, Liu P, Fan K, Liao P, Liu BZ, Wu GC, Chen YK, Li ZJ, Wang K, Zhang XL, Tian WG, Xiang JL, Du HX, Wang J, Hu Y, Tang N, Lin Y, Ren JH, Huang LY, Wei J, Gan CY, Chen YM, Gao QZ, Chen AM, He CL, Wang DX, Hu P, Zhou FC, Huang AL, Wang DQ. A peptide-based magnetic chemiluminescence enzyme immunoassay for serological diagnosis of Coronavirus Disease 2019. *J Infect Dis.* 2020;222(2):189 – 193. doi: 10.1093/infdis/jiaa243.
- [5] Chertow DS. Next-generation diagnostics with CRISPR. *Science.* 2018;360(6387):381 – 382. doi: 10.1126/science.aat4982.
- [6] Oleribe OO, Salako BL, Ka MM, Akpalu A, McConnochie M, Foster M, et al. Ebola virus disease epidemic in West Africa: lessons learned and issues arising from West African countries. *Clin Med.* 2015;15:54 – 57. doi: 10.7861/clinmedicine.15-1-54
- [7] Agumadu VC, Ramphul K. Zika virus: a review of literature. *Cureus.* 2018;10(7):e3025. doi: 10.7759/cureus.3025.
- [8] World Health Organization. Novel coronavirus (2019-nCoV): situation report, 1. Geneva: World Health Organization; 2020. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/330760>. Accessed 2020-01-21.
- [9] Gorbalenya AE, Baker SC, Baric RS, de Groot RJ, Drosten C, Gulyaeva AA, et al. The species severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2. *Nat Microbiol.* 2020;5(4):536 – 544. doi: 10.1038/s41564-020-0695-z.
- [10] Eurosurveillance Editorial Team Note from the editors: World Health Organization declares novel coronavirus (2019-nCoV) sixth public health emergency of international concern. *Euro Surveil.* 2020;25(5):200131e. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2020.25.5.200131e.