

· 公共卫生与预防医学研究 ·

新型冠状病毒特异性抗体微流控法定量检测能力评价及应用

秦圆方¹, 彭杰夫¹, 田华¹, 蒋屹², 陈思羽², 朱立国^{1*}

¹江苏省疾病预防控制中心, 江苏 南京 210009; ²厦门大学公共卫生学院, 福建 厦门 361102

[摘要] 目的: 建立并评价新型冠状病毒即严重急性呼吸综合征冠状病毒2型(severe acute respiratory syndrome coronavirus 2, SARS-CoV-2)特异性抗体定量检测方法, 为新型冠状病毒肺炎(corona virus disease-2019, COVID-19)疫情防控提供血清学研判支持。方法: 采集2020年1—2月SARS-CoV-2感染者及其密切接触者的血清和咽拭子样本, 分别用RT-qPCR法检测SARS-CoV-2核酸, 微流控法和胶体金法检测SARS-CoV-2特异性抗体, 并比较分析检测结果的一致性。结果: 微流控法、胶体金法检测SARS-CoV-2特异性IgG抗体的结果均与RT-qPCR方法一致。发病早中期(<14 d)与后期(≥14 d)微流控法IgG抗体阳性率差异有统计学意义。结论: 微流控法是一种新型可定量的SARS-CoV-2抗体检测方法, 检测结果准确且耗时短。

[关键词] 新型冠状病毒; 微流控法; 胶体金法

[中图分类号] R446.62

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2022)11-1621-06

doi: 10.7655/NYDXBNS20221120

Evaluation and application of a novel microfluidic method to detect COVID-19 antibodies quantitatively

QIN Yuanfang¹, PENG Jie fu¹, TIAN Hua¹, JIANG Yi², CHEN Siyu², ZHU Ligu^{1*}

¹Jiangsu Provincial Center for Disease Control and Prevention, Jiangsu 210009; ²School of Public Health, Xiamen University, Xiamen 361102, China

[Abstract] **Objective:** This study aims to establish and evaluate antibody quantitative detection methods of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2), in order to provide serological data base for corona virus disease-2019 (COVID-19) detection and prevention. **Methods:** The serum and throat swab samples of SARS-CoV-2 infected persons and their close contacts from January to February 2020 were collected, and the SARS-CoV-2 nucleic acid was detected by RT-qPCR, the SARS-CoV-2 specific antibody was detected by microfluidic method and colloidal gold method, respectively, and the consistency of the results was compared and analyzed. **Results:** The results of detection of SARS-CoV-2 specific IgG antibody by microfluidic method and colloidal gold method were consistent with those by RT-qPCR, but there were significant differences in IgG positive rates between the early-middle and the late stages by the microfluidic method. **Conclusion:** As a novel quantitative way to detect SARS-CoV-2 antibodies, the microfluidic method is brief and accurate.

[Key words] SARS-CoV-2; microfluidic method; colloidal gold method

[J Nanjing Med Univ, 2022, 42(11): 1621-1626]

2019年出现的由新型冠状病毒即严重急性呼吸综合征冠状病毒2型(severe acute respiratory syndrome coronavirus 2, SARS-CoV-2)传染引起的新型冠状病毒肺炎(corona virus disease 2019, COVID-19),

[基金项目] 江苏省社会发展项目(BE2021739)

*通信作者(Corresponding author), E-mail: zhuligu2002@163.com

在全球暴发并加速扩散流行^[1-2], 现已有上亿人感染, 死亡数百万人, 对社会产生极大影响^[3], 给世界各国造成巨大的疾病负担^[4]。准确快速开展血清学检测, 尽早发现感染者^[5-6], 不仅能及时有效治疗患者, 还能更有效地进行传染病防控^[7-8]。

我国《新型冠状病毒肺炎防控方案(第八版)》(联防联控机制综发[2021]51号)明确提出: 未接种

新冠病毒疫苗者新冠病毒特异性免疫球蛋白M(immunoglobulin M, IgM)抗体和免疫球蛋白G(immunoglobulin G, IgG)抗体均为阳性可判定为确诊病例。建立SARS-CoV-2抗体的快速定量检测方法是近期SARS-CoV-2研究和防控工作的重点。

1 对象和方法

1.1 对象

入组2020年1—2月江苏省SARS-CoV-2感染逆转录荧光定量PCR(reverse transcription-quantitative Real-time PCR, RT-qPCR)检测阳性确诊病例160例、密切接触者120例的咽拭子与血清,排除其中基本信息登记不全、样本不合格或样本量不足者(确诊病例4例、密切接触者1例),编盲后检测,记录结果后,揭盲、统计数据。

1.2 方法

1.2.1 微流控法

SARS-CoV-2微流控法(microfluidic method, MF)IgG/IgM抗体检测试剂盒(天津中新科炬生物制药股份有限公司),荧光免疫分析仪(F10pro)同时检测血清中IgG与IgM抗体,微流控法通过控制试剂卡内部微量荧光抗原抗体复合物的流动,采集样本中与抗体含量呈正相关的荧光信号,实现对抗体的定量检测^[9]。根据产品说明书定量吸取5 μL血清/血浆或10 μL全血样本加入到350 μL样本稀释液中,吸取35 μL稀释后样本液加入加样孔中,4~20 min内,沿试剂卡黑色箭头方向,插入荧光免疫分析仪判读结果,仪器分析并记录结果。

1.2.2 胶体金法

SARS-CoV-2胶体金法(colloidal gold method, CG)IgG/IgM抗体检测试剂盒(天津中新科炬生物制药股份有限公司),检测血清中IgG与IgM抗体,实验步骤与结果判定参照产品说明书。

1.2.3 荧光RT-PCR法(RT-qPCR)

病毒核酸提取试剂提取咽拭子核酸(西安天隆科技有限公司),SARS-CoV-2核酸检测试剂盒(荧光PCR法)(上海伯杰医疗科技有限公司)进行RT-qPCR检测,反应条件体系均按照试剂说明书进行。同时进行RNP基因(内参)检测,合成引物序列。RNP基因检测结果阳性样本为有效结果。有效结果根据上述SARS-CoV-2核酸检测试剂盒说明书判定结果阴阳性。

1.3 统计学方法

应用Excel软件对流行病学资料和实验室数

据进行录入和管理,资料分析使用SPSS 22.0和Stata14.0软件。阳性率等定性资料通过卡方检验分析;微流控S/CO(标本的吸光度)值等定量资料,当方差不齐时采用非参数检验分析。以核酸检测结果为金标准,统计分析不同检测指标的灵敏度、特异度、Kappa值。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 样本情况

入选2020年1—2月SARS-CoV-2感染确诊病例(确诊病例)与确诊病例的密切接触者(密接)共275例,其中确诊病例156例(56.7%),密接119例(43.3%);男136例(49.5%),女139例(50.5%);年龄(40.56±17.44)岁(1~88岁),中位年龄41岁。

2.2 检测结果

2.2.1 检测方法比较

微流控与胶体金检测卡相对于RT-qPCR检测能力分析见表1。与RT-qPCR检测法比较,微流控法IgM检测灵敏度与特异度分别是64.7%、99.2%,微流控法IgG检测灵敏度与特异度分别是98.7%、100.0%;胶体金法IgM检测灵敏度与特异度分别是55.7%、100.0%,胶体金法IgG检测灵敏度与特异度分别是96.8%、98.3%。一致性分析发现,微流控法IgM(Kappa=60.6%)与胶体金法IgM(Kappa=52.2%)检测与RT-qPCR检测比较一致性中等;微流控法IgG(Kappa=98.5%)与胶体金法IgG(Kappa=94.8%)检测与RT-qPCR检测高度一致。

表1 微流控与胶体金检测卡相对于RT-qPCR检测能力分析
Table 1 Analysis of detection ability of the microfluidic and the colloidal gold methods relative to RT-qPCR (n)

RT-qPCR 核酸检测	微流控法		胶体金法		微流控法		胶体金法	
	IgM		IgM		IgG		IgG	
	阳性	阴性	阳性	阴性	阳性	阴性	阳性	阴性
阳性	101	55	87	69	154	2	151	5
阴性	1	118	0	119	0	119	2	117

2.2.2 COVID-19 确诊病例 IgG、IgM 检测结果分析

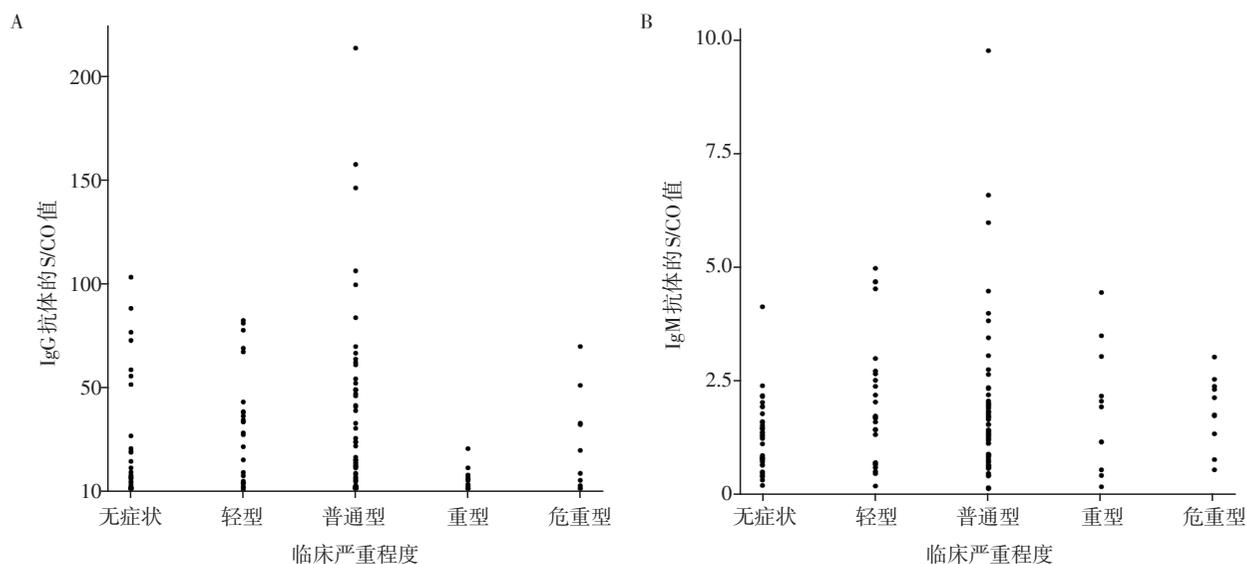
本研究中,COVID-19确诊病例共156例,男75例(48.1%),女81例(51.9%);年龄为(43.52±17.14)岁(4~77岁),中位年龄46岁;病程为(27.37±11.53)d(0~52 d);地区分布,苏州84例(53.8%),无锡20例(12.8%),连云港52例(33.3%);病程分布,病程<14 d为发病早中期,23例(14.7%),病程≥14 d为发病后期,133例(85.3%)。

微流控法检测的 IgG 的 S/CO 值为 (24.15 ± 33.37) (0.51~214.03), 微流控法检测的 IgM 的 S/CO 值为 (1.65 ± 1.33) (0.13~9.76)。以 5 个临床分型为 X 轴, IgG 和 IgM 的 S/CO 值为 Y 轴, 绘制散点图(图 1)。

COVID-19 发病早中期, 基于微流控法的 IgG 抗体 S/CO 值为 18.8 ± 7.6, 而发病后期为 25.1 ± 2.9, 差异有统计学意义 ($Z = -1.98, P = 0.048$); 根据性别、年龄、临床分型分组计算, 仅 18~ < 45 岁年龄组不同病程间 IgG 抗体 S/CO 值差异有统计学意义 ($Z = -2.84, P = 0.005$), 余根据性别、年龄、临床分型分组比较, 不同病程间 IgG 抗体 S/CO 值差异均无统计学意义(表 2)。COVID-19 发病早中期 IgG 阳性 21 例(91.3%), COVID-19 发病后期 IgG 阳性为 133 例(100.0%), 差

异有统计学意义 ($\chi^2_{\text{病程}} = 11.72, P = 0.001$); 且性别、年龄、临床分型分组比较, 不同病程间 IgG 抗体阳性率差异有统计学意义(表 3)。

COVID-19 发病早中期, 基于微流控法的新冠 IgM 抗体 S/CO 值为 1.7 ± 0.2, 发病后期为 1.6 ± 0.1, 差异无统计学意义 ($Z = 1.08, P = 0.281$); 性别、年龄、临床分型分组比较差异无统计学意义(表 4)。根据病程分组比较, 发病早中期 IgM 阳性 19 例(82.6%), 发病后期 IgM 阳性 82 例(61.7%), IgM 抗体阳性率差异无统计学意义 ($\chi^2 = 3.77, P = 0.052$)。根据流行病学信息分组中, 仅女性不同病程 IgM 抗体阳性率差异有统计学意义 ($\chi^2 = 4.93, P = 0.026$), 余年龄、临床分型分组比较, IgM 抗体阳性率差异无统计



A: 不同临床分型的 COVID-19 患者 IgG 抗体 S/CO 值分布; B: 不同临床分型的 COVID-19 患者 IgM 抗体 S/CO 值分布。

图 1 不同临床分型的 COVID-19 患者 IgG、IgM 抗体 S/CO 值分布

Figure 1 Distribution of the S/CO values of IgG and IgM antibody for different clinical types of COVID-19 cases

表 2 基于微流控法的 COVID-19 患者不同发病阶段 IgG 抗体 S/CO 值比较

Table 2 Comparison of IgG antibody S/CO values between different phases after onset among COVID-19 cases based on the microfluidic method

分组	特征	发病早中期(<14 d, n=23)	发病后期(≥14 d, n=133)	Z 值	P 值
性别	男	17.8 ± 7.3	28.3 ± 3.4	-1.52	0.129
	女	20.1 ± 14.1	22.1 ± 4.6	-1.50	0.135
年龄	<18 岁	11.1 ± 9.5	7.3 ± 4.4	0.00	1.000
	18~<45 岁	3.4 ± 1.2	16.7 ± 3.2	-2.84	0.005
	45~<60 岁	22.8 ± 14.9	25.9 ± 4.3	-0.16	0.871
	≥60 岁	50.4 ± 24.6	45.5 ± 8.8	-0.18	0.861
临床分型	无症状感染者	11.0 ± 8.2	20.0 ± 5.1	-1.40	0.161
	轻型	17.0 ± 16.5	30.6 ± 5.6	-1.06	0.290
	普通型	25.7 ± 13.7	28.7 ± 5.1	-0.94	0.350
	重型/危重型	8.4 ± 6.1	14.9 ± 4.6	-0.50	0.615

表3 基于微流控法的 COVID-19 患者不同发病阶段 IgG 抗体阳性率比较

Table 3 Comparison of IgG antibody positive rates between different phases after onset among COVID-19 cases based on the microfluidic method [n(%)]

分组	特征	发病早中期(<14 d, n=23)	发病后期(≥14 d, n=133)	χ^2 值	P值
性别	男	11(91.7)	63(100.0)	5.32	0.021
	女	10(90.9)	70(100.0)	6.44	0.011
年龄	<18岁	2(100.0)	11(100.0)	—*	—
	18~<45岁	10(83.3)	52(100.0)	8.94	0.003
	45~<60岁	3(100.0)	41(100.0)	—	—
	≥60岁	6(100.0)	29(100.0)	—	—
临床分型	无症状感染者	5(83.3)	32(100.0)	5.48	0.019
	轻型	1(50.0)	24(100.0)	12.48	<0.001
	普通型	12(100.0)	59(100.0)	—	—
	重型/危重型	3(100.0)	18(100.0)	—	—

学意义(表5)。

2 讨论

目前 COVID-19 确诊的主要手段为核酸检测^[10], 然而核酸检测仪器设备昂贵、采样人员暴露风险大, 采样时间及手法、实验室检测条件等限制容易出现假阴性^[11]。且有部分病例, 尤其是疫苗接种后又免疫突破的病例, 核酸检测常常不能有效检出^[12]。因此, COVID-19 特异性抗体检测不可或缺。

COVID-19 抗体定量检测在监测与辅助诊断方面很有意义。一方面, 了解 COVID-19 患者不同病程抗体滴度变化规律, 结合其他症状体征等可能让研究者了解 SARS-CoV-2 的更多信息; 另一方面, 掌握上述规律后, 通过检测 COVID-19 患者的血清滴度可以提示此患者的感染时间、病程甚至预后等信息。如近期化学发光法血清检测数据提示多数疫

苗接种者 IgG 滴度较低, 而免疫突破的 COVID-19 感染者 IgG 滴度较高, 提示接种疫苗后 IgG 滴度高的被检测者感染 SARS-CoV-2 可能性大(结果另文发表)。此外, 定量化的抗体检测可直观体现 COVID-19 患者体内抗体水平, 可以辅助诊断 SARS-CoV-2 感染, 可以帮助判断患者病程进展, 能监测治疗效果及评价预后^[13-14]。

目前, SARS-CoV-2 抗体常用检测方法包括胶体金法(CGI)、酶联免疫吸附法(ELISA)、化学发光(CLIA)等^[14], 现有 SARS-CoV-2 抗体定量检测方法主要为化学发光法, 但操作复杂, 需大型仪器设备, 检测时间长(至少 2~3 h)。

微流控法具有需检测样品量小、仪器体积小、能耗低与检测快(数分钟)等特点^[15], 是一个新兴的开放式检测平台, 应用范围非常广泛, 核酸和蛋白质都可以作为目标物质, 且蛋白质检测更为成熟^[16]。现

表4 基于微流控法的 COVID-19 患者不同发病阶段 IgM 抗体 S/CO 值比较

Table 4 Comparison of IgM antibody S/CO values between different phases after onset among COVID-19 cases based on the microfluidic method

分组	特征	发病早中期(<14 d, n=23)	发病后期(≥14 d, n=133)	Z值	P值
性别	男	1.4 ± 0.2	1.7 ± 0.2	-0.43	0.665
	女	2.0 ± 0.3	1.6 ± 0.2	1.83	0.067
年龄	<18岁	2.1 ± 0.9	0.9 ± 0.1	1.58	0.114
	18~<45岁	1.8 ± 0.1	1.9 ± 0.2	0.98	0.327
	45~<60岁	1.1 ± 0.1	1.6 ± 0.2	-0.72	0.471
	≥60岁	1.6 ± 0.6	1.6 ± 0.3	0.22	0.827
临床分型	无症状感染者	1.4 ± 0.2	1.2 ± 0.1	1.08	0.280
	轻型	3.1 ± 1.4	1.9 ± 0.3	0.87	0.387
	普通型	1.6 ± 0.2	1.7 ± 0.2	0.67	0.505
	重型/危重型	2.0 ± 0.6	1.8 ± 0.3	0.30	0.763

表5 基于微流控法的 COVID-19 患者不同发病阶段 IgM 抗体阳性率比较

Table 5 Comparison of IgM antibody positive rates between different phases after onset among COVID-19 cases based on the microfluidic method [n(%)]

分组	特征	发病早中期(<14 d, n=23)	发病后期(≥14 d, n=133)	χ ² 值	P值
性别	男	9(75.0)	43(68.3)	0.22	0.642
	女	10(90.9)	39(55.7)	4.93	0.026
年龄	<18岁	2(100.0)	3(27.3)	3.78	0.052
	18~<45岁	12(100.0)	39(75.0)	3.76	0.052
	45~<60岁	2(66.7)	26(63.4)	0.013	0.910
	≥60岁	3(50.0)	14(48.3)	0.006	0.939
临床分型	无症状感染者	4(66.7)	17(53.1)	0.375	0.540
	轻型	2(100.0)	17(70.8)	0.798	0.372
	普通型	10(83.3)	35(59.3)	2.477	0.116
	重型/危重型	3(100.0)	13(72.2)	1.094	0.296

关于微流控技术的基础研究越来越全面,如抗体固定方法^[17]、通道拓扑结构改善^[9]、多参数检测研究^[15]等。微流控快速筛查现正式列为前列腺癌筛查的方法之一^[18],还用于检测多种呼吸道病原^[19]、肝炎病毒^[20]等病原体,用于临床诊断缺铁性贫血^[21]、检测肌钙蛋白确诊心肌损伤^[22]、膀胱癌细胞捕获^[23],以及在农产品中检测赭曲霉毒素^[24]等。微流控技术在微型化、多元化、自动化方面不断进展,尤其在生命科学领域发展迅猛,有望成为生命科学的主要研究分析手段之一^[25]。

目前微流控法尚未商品化应用于 SARS-CoV-2 检测。因此,本研究评价了 SARS-CoV-2 特异性抗体微流控定量检测新方法,期望可以发现一种 SARS-CoV-2 抗体快速定量检测方法,更好适用于现场即时检测(point-of-care testing, POCT)与临床^[12]。

POCT 主要指用便携式分析仪器在采样现场立即得到检测结果的检测方式,以实现快速便捷的临床现场检验为主要目标,具有检测时效性较高、综合成本较低、不依赖专业设备等优势,现已广泛应用于检验检疫、临床监护、家庭保健等领域^[16]。POCT 可以使临床诊断和治疗质量得到提升^[26]。微流控法所需样本体积小、方便快捷,适用于 POCT^[27]。

本研究中,鉴于 COVID-19 确诊样本均采集于 2020 年 1—2 月,COVID-19 疫情初始,患者样本不存在疫苗接种以及多次不同亚型 SARS-CoV-2 病毒感染干扰,检测结果阳性即可判定为 SARS-CoV-2 感染。由于 RT-PCR 敏感性与特异性均较高,是目前判断受试者是否感染 SARS-CoV-2 的标准^[28],SARS-CoV-2 抗体检测也多以此为检测评价标准^[28-30]。本研究中 RT-PCR 与微流控 IgG、胶体金 IgG 检测结果

一致性良好。微流控 SARS-CoV-2 血清抗体定量检测 IgG 的 S/CO 值范围较大 0.51~214.03 (24.15 ± 33.37),IgM 范围 0.13~9.76 (1.65 ± 1.33),但由于病程早期与中期样本的数量较少,仅 IgG 抗体 S/CO 值在 COVID-19 发病早中期比较差异有统计学意义,余分组比较差异均无统计学意义。加大样本量以及免疫突破病例的检测可对 COVID-19 抗体消长规律进行更深入的研究。

综上,微流控法检测快速方便,应用范围越来越广^[31],可在判定 IgG、IgM 抗体阳性的同时测定抗体浓度滴度,是一种新型抗体滴度检测方法。本研究基于微流控法定量检测了 SARS-CoV-2 感染者的血清抗体,检测结果准确,但仍需进一步扩大样本量,多人群开展验证,以得到更大范围的应用。

[参考文献]

- [1] DASTAR S, GHARESOURAN J, MORTAZAVI D, et al. COVID-19 pandemic: insights into genetic susceptibility to SARS-CoV-2 and host genes implications on virus spread, disease severity and outcomes [J]. Hum Antibodies, 2022, 30(1):1-14
- [2] SHAMIM T. History taking is still the golden standard in diagnosing and treating a disease in corona virus disease (COVID-19) scenario [J]. J Family Med Prim Care, 2022, 11(1):398
- [3] YANG H, ZHENG Y, YU F, et al. Knowledge, attitudes, and social responsiveness toward Corona virus disease 2019 (COVID-19) among Chinese medical students - thoughts on medical education [J]. Front Med (Lausanne), 2021, 8:647679
- [4] MOLLARASOULI F, ZARE-SHEHNEH N, GHAEDI M.

- A review on corona virus disease 2019(COVID-19): current progress, clinical features and bioanalytical diagnostic methods[J]. *Mikrochim Acta*, 2022, 189(3): 103
- [5] XIANG H R, CHENG X, LI Y, et al. Efficacy of IVIG (intravenous immunoglobulin) for corona virus disease 2019 (COVID-19): a meta-analysis[J]. *Int Immunopharmacol*, 2021, 96: 107732
- [6] SHUKLA A K, MISRA S. Antibody-dependent enhancement of virus infection and disease: implications in COVID-19[J]. *J Basic Clin Physiol Pharmacol*, 2022, 33(1): 13-16
- [7] CHEN H, LIU K, LI Z, et al. Point of care testing for infectious diseases[J]. *Clin Chim Acta*, 2019, 493: 138-147
- [8] ZHANG HL, KELLY BJ, DAVID MZ, et al. Severe acute respiratory coronavirus virus 2(SARS-CoV-2) surface contamination in staff common areas and impact on health-care worker infection: Prospective surveillance during the coronavirus disease 2019 (COVID-19) pandemic [J]. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 2021, 32(8): 1-4
- [9] 董馨, 刘小民. 微流控芯片通道结构的拓扑优化研究[J]. *西安交通大学学报*, 2018, 52(6): 143-149
- [10] 蒋皓, 沈洲. 非公办独立医学实验室在大规模新冠病毒核酸筛查中的实践与启示[J]. *南京医科大学学报(社会科学版)*, 2022, 22(2): 169-173
- [11] 杨娜, 陈国强, 邱雪平, 等. 新型冠状病毒IgM和IgG抗体4种不同检测试剂的临床应用评价[J]. *中华检验医学杂志*, 2021, 44(2): 137-141
- [12] 张浩, 张恩鲤, 陈晓宁. 微流控芯片在新冠核酸检测中的应用[J]. *生命科学仪器*, 2020, 18(4): 53-60
- [13] 吴联朋, 朱守宽, 毛婷婷, 等. 化学发光免疫分析技术在新型冠状病毒肺炎辅助诊断中的应用价值[J]. *浙江医学*, 2021, 43(7): 778-780
- [14] 刘威, 杨超杰, 瞿良, 等. 10种新型冠状病毒抗体检测试剂盒效果评价[J]. *国际药学研究杂志*, 2020, 47(9): 716-721
- [15] 王天星, 钟隆洁, 苏凯麒, 等. 基于微流控技术的体外多参数快速诊断POCT系统的设计[J]. *传感技术学报*, 2018, 31(5): 797-802
- [16] 李晓琼, 杨春华, 潘邵武, 等. 面向POCT应用的微流控芯片技术综述[J]. *世界复合医学*, 2015, 1(1): 30-37
- [17] 樊斐, 张国军, 康熙雄, 等. 微流控芯片免疫分析抗体固定方法比较[J]. *中国医药生物技术*, 2015, 10(1): 81-83
- [18] 中国抗癌协会泌尿男生殖系统肿瘤专业委员会前列腺癌学组, 戴波, 叶定伟, 等. 前列腺癌筛查中国专家共识(2021年版)[J]. *中国癌症杂志*, 2021, 31(5): 435-440
- [19] HUANG E, WANG Y, YANG N, et al. A fully automated microfluidic PCR-array system for rapid detection of multiple respiratory tract infection pathogens [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2021, 413(7): 1787-1798
- [20] ORTEGA-PRIETO A M, SKELTON J K, WAI S N, et al. 3D microfluidic liver cultures as a physiological preclinical tool for hepatitis B virus infection [J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1): 682
- [21] YAP BK, SN MS, TALIK NA, et al. Potential point-of-care microfluidic devices to diagnose iron deficiency anemia [J]. *Sensors (Basel)*, 2018, 8(18): 177-184
- [22] 全静雯, 陈建芸, 刘萍, 等. 基于微流控生物芯片技术的POCT检测仪用于心肌肌钙蛋白I检测的性能评价[J]. *中华检验医学杂志*, 2019, 42(10): 875-878
- [23] 王云超. 基于微流控芯片的膀胱癌循环肿瘤细胞的特异性捕获[D]. 济南: 山东大学, 2017
- [24] SHAHDEO D, KHAN A A, ALANAZI A M, et al. Molecular diagnostic of ochratoxin A with specific aptamers in corn and groundnut via fabrication of a microfluidic device [J]. *Front Nutr*, 2022, 9: 851787
- [25] 王立凯, 冯喜增. 微流控芯片技术在生命科学研究中的应用[J]. *化学进展*, 2005, 17(3): 482-498
- [26] 刘芳, 牛亚倩, 常钰玲, 等. 分子即时检验(POCT)在病毒性呼吸道感染疾病诊断中的应用前景[J]. *中国感染控制杂志*, 2021, 20(3): 279-282
- [27] GUAN WJ, NI ZY, HU Y, et al. Clinical characteristics of coronavirus disease 2019 in China [J]. *N Engl J Med*, 2020, 18(382): 1708-1720
- [28] CHAIMAYO C, KAEWNAPHAN B, TANLIENG N, et al. Rapid SARS-CoV-2 antigen detection assay in comparison with real-time RT-PCR assay for laboratory diagnosis of COVID-19 in Thailand [J]. *Virology*, 2020, 17(1): 177
- [29] BHATT M, ZEMEK R L, TANG K, et al. Antibody seronegativity in COVID-19 RT-PCR-positive children [J]. *Pediatr Infect Dis J*, 2022, 41(8): 318-320
- [30] CASTRO-PERAZA O E, MARTÍNEZ-RODRÍGUEZ A. RT-PCR usefulness in microbiological discharge decisions for COVID-19 patients [J]. *MEDICC Rev*, 2020, 22(4): 8
- [31] CAMPBELL J M, BALHOFF J B, LANDWEHR G M, et al. Microfluidic and paper-based devices for disease detection and diagnostic research [J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(9): 2731

[收稿日期] 2022-05-23

(本文编辑: 陈汐敏)