

· 基础研究 ·

# 人干扰素 $\alpha 1b$ 体外抗 SARS-CoV-2 Omicron 株的药效

刘琳琳<sup>1</sup> $\Delta$ , 李玉薇<sup>2</sup> $\Delta$ , 邹勇<sup>1</sup>, 张雪梅<sup>1</sup>, 卢佳<sup>2</sup>, 刘小可<sup>2</sup>, 王泽馨<sup>2</sup>, 刘玉林<sup>1</sup>, 刘景会<sup>1</sup>

1. 长春生物制品研究所有限责任公司, 吉林 长春 130012;
2. 武汉生物制品研究所有限责任公司, 湖北 武汉 430000

**摘要:** **目的** 评价人干扰素(interferon, IFN) $\alpha 1b$  体外抗严重急性呼吸综合征冠状病毒 2(severe acute respiratory syndrome coronavirus 2, SARS-CoV-2) Omicron 株的药效。 **方法** 采用 CCK-8 法检测人 IFN $\alpha 1b$  原液、人 IFN $\alpha 1b$  滴眼液、人 IFN $\alpha 1b$  喷雾剂、瑞德西韦共 4 种药物的细胞毒性; qPCR 法检测人 IFN $\alpha 1b$  对 SARS-CoV-2 Omicron 株(BA. 5 / BA. 2 / BA. 1) 的抑制效果。 **结果** 最高浓度( $1 \times 10^7$  IU / mL) 人 IFN $\alpha 1b$  原液和最高浓度(150  $\mu$ mol / L) 瑞德西韦对 Vero 细胞未达到半数细胞毒性; 人 IFN $\alpha 1b$  滴眼液和人 IFN $\alpha 1b$  喷雾剂的半数毒性浓度(CC<sub>50</sub>) 分别为 29 958 和 37 550 IU / mL, 对 Vero 细胞具有毒性。 人 IFN $\alpha 1b$  提前孵育 2 h 后再攻毒, 对 BA. 1、BA. 2、BA. 5 株的半数有效浓度(EC<sub>50</sub>) 分别为 9. 30、13. 38、12. 33 IU / mL, 瑞德西韦分别为 0. 314 7、0. 291 0、0. 300 3  $\mu$ mol / L。 人 IFN $\alpha 1b$  与病毒同时孵育, 对 BA. 1、BA. 2、BA. 5 株的 EC<sub>50</sub> 分别为 19. 68、10. 91、18. 84 IU / mL, 对照药瑞德西韦分别为 0. 320 5、0. 274 4、0. 304 1  $\mu$ mol / L。 **结论** 在体外细胞水平上, 极低活性的人 IFN $\alpha 1b$  即可对 SARS-CoV-2 Omicron 株具有较好的抑制作用, 有望成为治疗 SARS-CoV-2 Omicron 株感染的临床特效药。

**关键词:** 严重急性呼吸综合征冠状病毒 2; Omicron 株; 人干扰素  $\alpha 1b$ ; 药效学

**中图分类号:** R297. 2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-5503(2023)02-0158-05

## Pharmacodynamics of human interferon $\alpha 1b$ against severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 Omicron strain in vitro

LIU Lin-lin<sup>\*</sup>, LI Yu-wei, ZOU Yong, ZHANG Xue-mei, LU Jia, LIU Xiao-ke, WANG Ze-yun, LIU Yu-lin, LIU Jing-hui<sup>\*</sup>Changchun Institute of Biological Products Co., Ltd., Changchun 130012, Jilin Province, China

Corresponding author: LIU Jing-hui, E-mail: 752970348@qq.com

**Abstract:** **Objective** To evaluate the pharmacodynamics of human interferon (IFN) $\alpha 1b$  against severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) Omicron strain in vitro. **Methods** Total four drugs human IFN $\alpha 1b$  bulk, human IFN $\alpha 1b$  eye drops, human IFN $\alpha 1b$  spray and Remdesivir were detected for cytotoxicity by CCK-8 assay. The inhibitory effect of human IFN $\alpha 1b$  on SARS-CoV-2 Omicron strains (BA. 5 / BA. 2 / BA. 1) was determined by qPCR. **Results** Human IFN $\alpha 1b$  bulk of the maximum concentration ( $1 \times 10^7$  IU / mL) and Remdesivir of the maximum concentration (150  $\mu$ mol / L) did not achieve half cytotoxicity to Vero cells; The median cytotoxicity concentrations (CC<sub>50</sub>) of human IFN $\alpha 1b$  eye drops and human IFN $\alpha 1b$  sprays were 29 958 and 37 550 IU / mL, respectively, showing toxicity to Vero cells. The median effective concentrations (EC<sub>50</sub>) of human IFN $\alpha 1b$  against virus strains BA. 1, BA. 2 and BA. 5 after incubation for 2 h in advance were 9. 30, 13. 38 and 12. 33 IU / mL and those of Remdesivir were 0. 314 7, 0. 291 0 and 0. 300 3  $\mu$ mol / L. When incubation with virus simultaneously, the EC<sub>50</sub> of human IFN $\alpha 1b$  to BA. 1, BA. 2 and BA. 5 were 19. 68, 10. 91 and 18. 84 IU / mL and those of the control drug Remdesivir were 0. 320 5, 0. 274 4 and 0. 304 1  $\mu$ mol / L, respectively. **Conclusion** At the cell level in vitro, human IFN $\alpha 1b$  of very low activity showed a good inhibitory effect on SARS-CoV-2 Omicron strain, which was expected to be a clinical specific drug for the treatment of SARS-CoV-2 Omicron

基金项目: 吉林省科技发展计划基金(20160307028YY).

通信作者: 刘景会, E-mail: 752970348@qq.com

$\Delta$ : 共享第一作者

strain infection.

**Keywords:** Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2); Omicron strain; Human interferon  $\alpha$ 1b; Pharmacodynamics

干扰素(interferon, IFN)作为广谱抗病毒药物,是目前用于临床治疗最重要的细胞因子之一。IFN在宿主细胞受到刺激(如病毒、细菌等各种病原体感染)时产生,并最终启动机体免疫系统的防御机制<sup>[1]</sup>。IFN作用于同一或邻近细胞的IFN受体,激活一系列抗病毒级联反应,从而诱导上百种含IFN刺激反应元件的基因转录<sup>[2]</sup>。这些IFN激活大量抗病毒相关基因的表达,如2',5'-寡腺苷酸合成酶、蛋白激酶、抗黏液病毒蛋白等<sup>[3]</sup>。严重急性呼吸综合征冠状病毒2(severe acute respiratory syndrome coronavirus 2, SARS-CoV-2)Omicron株在感染早期可能传染性较高,但当其试图扩散至上呼吸道以外或遇IFN抑制时,病毒数量及感染能力会迅速下降。IFN作为天然免疫的关键细胞因子,是防御病毒入侵的第一道防线。研究表明,使用IFN后,虽然其自身在人体内代谢较快,但其激发的抗病毒蛋白可在人体内稳定存在多日<sup>[4]</sup>。感染前或感染早期,IFN会有效刺激上皮细胞产生抗病毒蛋白,从而抑制或清除Omicron株病毒,但如果细胞已被病毒破坏,IFN则无法修复被感染细胞。因此,感染初期,IFN $\alpha$ 对SARS-CoV-2的抑制是有效的。

免疫力低下人群不能及时产生足量内源性IFN $\alpha$ ,使病毒获得复制机会,这是部分人群易感并逐步趋向重症化的原因。因此,提前补充外源IFN $\alpha$ 可快速提高人体免疫力,达到预防病毒及抗病毒的目的。IFN具有广谱抗病毒效果,对呼吸道合胞病毒、疱疹病毒、流感病毒、副流感病毒、冠状病毒等呼吸道病毒均具有抑制作用<sup>[5]</sup>。国家卫生健康委员会连续印发的第一至第八版《新型冠状病毒肺炎诊疗方案》,均推荐成人每日2次雾化吸入500万IU或相当剂量IFN $\alpha$ <sup>[6]</sup>。眼部、鼻腔、咽部、呼吸道黏膜系统缺少角质层保护,且有病毒受体,是病毒感染初期主要途径。而呼吸道黏膜系统有IFN $\alpha$ 受体,通过使用人IFN $\alpha$ 1b滴眼(眼部黏膜、鼻泪管)、滴鼻、喷鼻(鼻腔和咽部)也可使上呼吸道黏膜系统在IFN作用下产生大量抗病毒蛋白,使机体处于抗病毒状态,有效阻止病毒吸附、脱壳、核酸复制、组装、释放等,从而抑制病毒感染、增殖,起到应急预防和早期治疗的作用。

本研究在体外细胞水平上,采用qPCR法检测人IFN $\alpha$ 1b对SARS-CoV-2 Omicron株(BA.5/BA.2/BA.1)的抑制效果,探索低活性/浓度人IFN $\alpha$ 1b的

抗病毒作用,对评价人IFN $\alpha$ 1b在应急预防和治疗SARS-CoV-2感染上的有效性具有重要意义。

## 1 材料与方法

**1.1 病毒及细胞** SARS-CoV-2 Omicron株(BA.5/BA.2/BA.1)由武汉生物制品研究有限责任公司提供,常规传代,-80℃保存,Vero细胞也由该公司提供。

**1.2 IFN及阳性对照药** 人IFN $\alpha$ 1b原液(批号:SCF1-B202201,蛋白含量:3.8 mg/mL,生物学活性:5.1 × 10<sup>7</sup> IU/mL)、人IFN $\alpha$ 1b滴眼液(批号:20220502,生物学活性:1.0 × 10<sup>5</sup> IU/mL,比活性1.5 × 10<sup>7</sup> IU/mg,分子量:19 382 kD)、人IFN $\alpha$ 1b喷雾剂(批号:2022-1106,生物学活性:5.0 × 10<sup>5</sup> IU/mL)均由长春生物制品研究有限责任公司提供;瑞德西韦(Remdesivir)购自美国吉利德科技公司。

**1.3 主要试剂及仪器** DMEM培养基、胰蛋白酶、无菌PBS缓冲液(pH 7.2 ~ 7.4)购自迈晨科技(北京)有限公司;CCK-8试剂购自上海碧云天生物技术有限公司;DMSO购自生工生物工程(上海)股份有限公司;核酸提取或纯化试剂(批号:2021108)、新型冠状病毒2019-nCoV核酸检测试剂盒(批号:2021208)、全自动核酸提取仪(Stream SP96)购自广州达安基因股份有限公司;细胞培养瓶、96孔培养板购自美国Corning公司;实时荧光定量PCR仪(QuantStudio5)购自美国ABI公司。

**1.4 细胞毒性检测** 采用CCK-8法检测人IFN $\alpha$ 1b原液、人IFN $\alpha$ 1b滴眼液、人IFN $\alpha$ 1b喷雾剂、瑞德西韦共4种药物的细胞毒性。将Vero细胞按2 × 10<sup>4</sup>个/mL接种96孔板,0.1 mL/孔,37℃,5% CO<sub>2</sub>孵箱培养18 ~ 24 h至细胞长成单层;弃培养基,加入不同浓度工作液[人IFN $\alpha$ 1b原液:稀释至1 × 10<sup>7</sup> IU/mL后,进行3倍系列稀释,共8个稀释度;人IFN $\alpha$ 1b滴眼液:稀释至1 × 10<sup>5</sup> IU/mL后,进行3倍系列稀释,共8个稀释度;人IFN $\alpha$ 1b喷雾剂:稀释至1 × 10<sup>5</sup> IU/mL后,进行3倍系列稀释,共8个稀释度;阳性对照药:瑞德西韦稀释至150 μmol/L后,进行3倍系列稀释,共8个稀释度],100 μL/孔,每个稀释度重复6孔,37℃,5% CO<sub>2</sub>孵箱培养72 h;加入CCK-8试剂,20 μL/孔,继续培养1 ~ 4 h;检测各孔450 nm波长

处的A值,按下式计算受试物对细胞存活率的影响,将数据输入GraphPad Prism计算半数毒性浓度(CC<sub>50</sub>)。

$$\text{细胞存活率}(\%) = [(A_{\text{受试孔}} - A_{\text{空白孔}}) / (A_{\text{对照孔}} - A_{\text{空白孔}})] \times 100\%$$

**1.5 抗SARS-CoV-2 Omicron株活性检测**

采用qPCR法<sup>[7-15]</sup>。将Vero细胞按2 × 10<sup>4</sup>个/mL接种96孔板,37 °C,5% CO<sub>2</sub>孵箱培养至细胞长成单层,备用。

**1.5.1 人IFNα1b预孵育2 h后攻毒** 将人IFNα1b原液稀释至5 × 10<sup>3</sup> IU/mL,进行3倍系列稀释,共8个稀释度,每个稀释度设4个复孔,作为IFN抑制组;将50 μmol/L瑞德西韦进行3倍系列稀释,共8个稀释度,每个稀释度设2个复孔,作为瑞德西韦抑制组。将各组药品接种96孔板,100 μL/孔,37 °C,5% CO<sub>2</sub>孵箱继续培养2 h;弃培养基,PBS洗板2次,100 μL/孔,同时设细胞对照组(正常细胞培养)和病毒对照组(仅在细胞中加入病毒);将Omicron株(BA.5/BA.2/BA.1)按MOI = 0.01加入相应细胞孔,100 μL/孔,37 °C,5% CO<sub>2</sub>孵箱培养2 h;弃病毒液,PBS洗板2次,100 μL/孔,加入细胞维持液,200 μL/孔,37 °C,5% CO<sub>2</sub>孵箱继续培养24 ~ 72 h。显微镜下观察细胞病变形态,病毒对照组细胞病变程度超过75%以上时进行qPCR检测。

**1.5.2 人IFNα1b与病毒同孵育** IFNα1b原液和瑞德西韦稀释以及Omicron株(BA.5/BA.2/BA.1)攻毒剂量同1.5.1项。将药品与病毒同时加入Vero细胞,37 °C,5% CO<sub>2</sub>孵箱培养2 h;弃混合液,PBS洗

板2次,100 μL/孔,加入细胞维持液,200 μL/孔,37 °C,5% CO<sub>2</sub>孵箱继续培养。显微镜下观察细胞病变形态,在病毒对照组病变程度超过75%以上时进行qPCR检测。

**1.6 qPCR法** 培养结束后,每孔取上清液0.2 mL,依次加入0.5 mL裂解液和0.02 mL蛋白酶K,混匀,70 °C加热15 min,收集样品,全自动核酸提取仪提取核酸,采用新型冠状病毒2019-nCoV核酸检测试剂盒,于实时荧光定量PCR仪上检测SARS-CoV-2 RNA水平。按下式计算不同稀释倍数下供试品对SARS-CoV-2的抑制率,将数据输入GraphPad Prism计算半数有效浓度(EC<sub>50</sub>)。

$$\text{抑制率}(\%) = [1 - (\text{药品组病毒核酸拷贝数} / \text{病毒对照组病毒核酸拷贝数})] \times 100\%$$

**2 结果**

**2.1 细胞毒性** 结果显示,人IFNα1b原液CC<sub>50</sub>无法计算,所有试验孔状态良好,表明最高浓度(1 × 10<sup>7</sup> IU/mL)人IFNα1b原液对Vero细胞未达到半数细胞毒性;瑞德西韦CC<sub>50</sub>无法计算,所有试验孔状态良好,表明最高浓度(150 μmol/L)瑞德西韦对Vero细胞未达到半数细胞毒性;人IFNα1b滴眼液的CC<sub>50</sub>为29 958 IU/mL,人IFNα1b喷雾剂的CC<sub>50</sub>为37 550 IU/mL,表明高浓度人IFNα1b滴眼液和人IFNα1b喷雾剂对Vero细胞具有毒性。见图1。

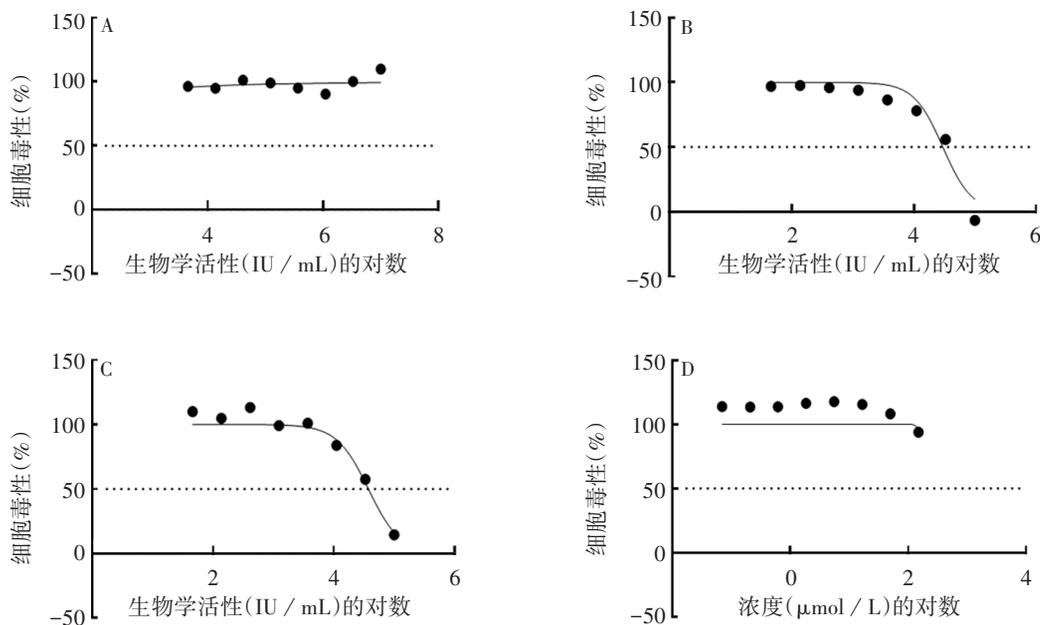


图1 人IFNα1b原液(A)、人IFNα1b滴眼液(B)、人IFNα1b喷雾剂(C)、瑞德西韦(D)对Vero细胞毒性的检测

Fig. 1 Determination of cytotoxicity of human IFNα1b bulk (A), human IFNα1b eye drops (B), human IFNα1b spray (C) and Redesivir (D) on Vero cells

## 2.2 人IFN $\alpha$ 1b抗SARS-CoV-2 Omicron株活性

**2.2.1 人IFN $\alpha$ 1b预孵育2 h后攻毒** 人IFN $\alpha$ 1b对BA.1株的 $EC_{50}$ 为9.30 IU/mL(32 pmol/L),瑞德西韦为0.314 7  $\mu$ mol/L;人IFN $\alpha$ 1b对BA.2株的 $EC_{50}$ 为13.38 IU/mL(46 pmol/L),瑞德西韦为0.291 0  $\mu$ mol/L;人IFN $\alpha$ 1b对BA.5株的 $EC_{50}$ 为12.33 IU/mL(42.4 pmol/L),瑞德西韦为0.3003  $\mu$ mol/L。见图2。

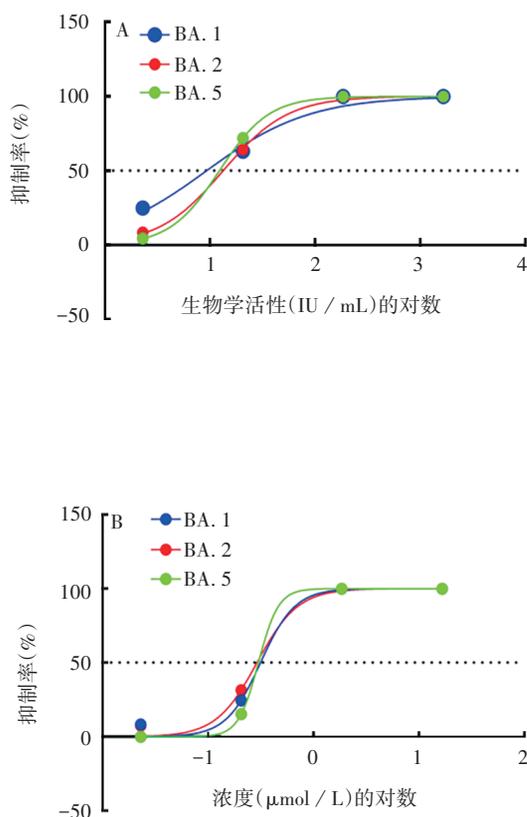


图2 预防组人IFN $\alpha$ 1b(A)和瑞德西韦(B)对SARS-CoV-2 Omicron株(BA.5 / BA.2 / BA.1)的抑制效果

Fig.2 Inhibitory effect of human IFN $\alpha$ 1b (A) and Remdesivir (B) against SARS-CoV-2 Omicron strain (BA.5 / BA.2 / BA.1) in prevention group

**2.2.2 人IFN $\alpha$ 1b与病毒同孵育** 人IFN $\alpha$ 1b对BA.1株的 $EC_{50}$ 为19.68 IU/mL(67.7 pmol/L),瑞德西韦为0.320 5  $\mu$ mol/L;人IFN $\alpha$ 1b对BA.2株的 $EC_{50}$ 为10.91 IU/mL(37.5 pmol/L),瑞德西韦为0.2744  $\mu$ mol/L;人IFN $\alpha$ 1b对BA.5株的 $EC_{50}$ 为18.84 IU/mL(64.8 pmol/L),瑞德西韦为0.304 1  $\mu$ mol/L。见图3。

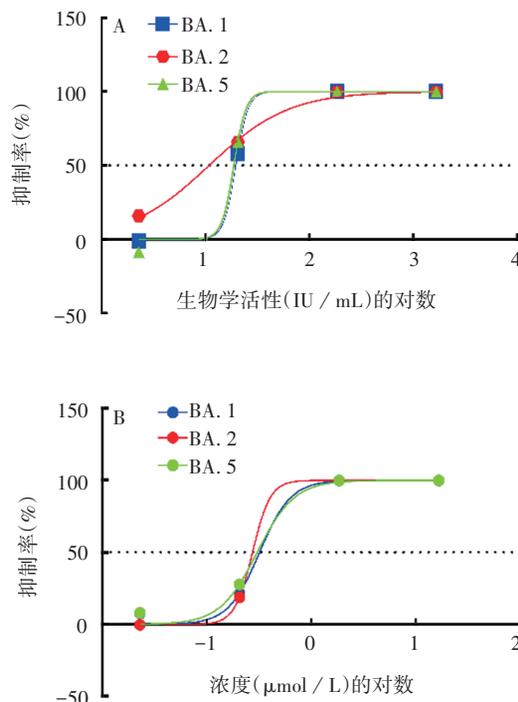


图3 同时攻毒组人IFN $\alpha$ 1b(A)和瑞德西韦(B)对SARS-CoV-2 Omicron株(BA.5 / BA.2 / BA.1)的抑制效果

Fig.3 Inhibitory effect of human IFN $\alpha$ 1b (A) and Remdesivir (B) against SARS-CoV-2 Omicron strain (BA.5 / BA.2 / BA.1) in simultaneous challenge group

## 3 讨论

目前由SARS-CoV-2感染引起的新型冠状病毒肺炎(Coronavirus Disease 2019, COVID-19)疫情仍在全球暴发流行<sup>[16-19]</sup>。2022年底,我国出现各种SARS-CoV-2 Omicron株大规模感染,具有传播速度快、毒力强和容易免疫逃逸等特点<sup>[20-22]</sup>。SARS-CoV-2病原学复杂,易发生变异,给疫苗研究和有效接种带来了巨大困难,目前仍缺乏针对性特效药物<sup>[23-25]</sup>。

本研究结果显示,在体外细胞水平上,极低活性/浓度的人IFN $\alpha$ 1b对SARS-CoV-2 Omicron株(BA.5 / BA.2 / BA.1)均具有较好的抑制活性,且人IFN $\alpha$ 1b原液的细胞毒性极低,治疗指数高,优于阳性对照药物。关于人IFN $\alpha$ 1b在体内是否具有相同的抑制效果,尚需进一步确认,因此后续将开展人IFN $\alpha$ 1b体内抗SARS-CoV-2 Omicron株感染的药效评价。

研究表明,SARS-CoV-2在鼻腔的内皮细胞滴度相对较高,咽喉和支气管逐渐降低,肺部相对较低,这种病毒的感染模式和分布提示,IFN通过滴鼻或喷雾递送至鼻腔或喉咙,可能在局部有效抑制SARS-CoV-2的感染<sup>[26]</sup>,起到类似疫苗的预防作用。因此,

人 IFN $\alpha$ 1b 滴眼液和人 IFN $\alpha$ 1b 喷雾剂有望成为临床预防 SARS-CoV-2 Omicron 株感染的特效药。

#### 参考文献

- [1] DE WEERD N A, SAMARAJIWA S A, HERTZOG P J. Type I interferon receptors: biochemistry and biological functions [J]. *J Biol Chem*, 2007, 282: 20053-20057.
- [2] VAN DE SANDT C E, KREIJTZ J H, RIMMELZWAAN G F. Evasion of influenza A viruses from innate and adaptive immune responses [J]. *Viruses*, 2012, 4: 1438-1476.
- [3] WANG X, HINSON E R, CRESSWELL P. The interferon-inducible protein viperin inhibits influenza virus release by perturbing lipid rafts [J]. *Cell Host Microbe*, 2007, 2: 96-105.
- [4] YAMAGATA Y, YUASA Y, YAMAMOTO K, *et al*. Pharmacologic effect of recombinant human IFN- $\alpha$ , continuously released from a matrix prepared from a polyglycerol ester of fatty acids, on 2', 5'-oligoadenylate synthetase activity in murine liver [J]. *J Interferon Cytokine Res*, 2000, 20 (2): 153-160.
- [5] JIANG R M, HAN B, SONG M H, *et al*. Efficacy and safety of aerosol inhalation of recombinant human interferon  $\alpha$ 1b (IFN $\alpha$ 1b) injection for noninfluenza viral pneumonia, a multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled trial [J]. *J Inflamm (Lond)*, 2020, 17: 19.
- [6] National Health Commission of the PRC. Guideline on diagnosis and treatment of novel coronavirus pneumonia (interim 8th edition) [J]. *Infect Dis Inform*, 2020, 33 (4): 289-296. (in Chinese)  
国家卫生健康委办公厅. 新型冠状病毒肺炎诊疗方案(试行第八版)[J]. *传染病信息*, 2020, 33 (4): 289-296.
- [7] CORMAN V M, LANDT O, KAISER M, *et al*. Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR [J]. *Euro-surveillance*, 2020, 25 (3): 2000045.
- [8] SHEN L, CUI S, ZHANG D, *et al*. Comparison of four commercial RT-PCR diagnostic kits for COVID-19 in China [J]. *J Clin Lab Analys*, 2021, 35 (1): e23605. DOI: 10.1002/jcla.23605.
- [9] GARG A, GHOSHAL U, PATEL S S, *et al*. Evaluation of seven commercial RT-PCR kits for COVID-19 testing in pooled clinical specimens [J]. *J Med Virol*, 2020, 93 (4): 2281-2286.
- [10] JÚNIOR J V J S, MERCHIORATTO I, DE OLIVEIRA P S B, *et al*. End-point RT-PCR: A potential alternative for diagnosing coronavirus disease 2019 (COVID-19) [J]. *J Virol Mtd*, 2021, 288: 114007.
- [11] ZHEN W, BERRY G J. Development of a new multiplex realtime RT-PCR assay for severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) detection [J]. *J Mol Diag*, 2020, 22 (12): 1367-1372.
- [12] CASSINARI K, ALESSANDRI-GRADT E, CHAMBON P, *et al*. Assessment of multiplex digital droplet RT-PCR as a diagnostic tool for SARS-CoV-2 detection in nasopharyngeal swabs and saliva samples [J]. *Clin Chem*, 2020, 67 (5): 736-741.
- [13] ZHOU Z J, XIE Y, YUE S L, *et al*. Application of SARS-CoV-2 antibody sample panel in quality evaluation of test cassettes for colloidal gold lateral flow assay [J]. *Chin J Biologicals*, 2021, 1 (34): 73-77. (in Chinese)  
周志军, 谢勇, 岳胜兰, 等. 抗新型冠状病毒抗体样本盘在其胶体金测试卡质量评价中的应用 [J]. *中国生物制品学杂志*, 2021, 1 (34): 73-77.
- [14] YANG Z N, ZHAO Y Y, LI L, *et al*. Evaluation of safety of two inactivated COVID-19 vaccines in a large-scale emergency use [J]. *Chin J Epidemiol*, 2021, 42 (6): 977-982. (in Chinese)  
杨中楠, 赵韵芽, 李璐, 等. 新型冠状病毒灭活疫苗(Vero细胞)大规模紧急使用安全性评价 [J]. *中华流行病学杂志*, 2021, 42 (6): 977-982.
- [15] WANG M J, SHEN S. Progress in research on non-structure protein of coronavirus [J]. *Chin J Biologicals*, 2022, 35 (1): 100-111. (in Chinese)  
汪梦俊, 申硕. 冠状病毒非结构蛋白的研究进展 [J]. *中国生物制品学杂志*, 2022, 35 (1): 100-111.
- [16] VELAVAN T P, MEYER C G. The COVID-19 epidemic [J]. *Trop Med & Int Health*, 2020, 25 (3): 278-280.
- [17] DAVIES N G, ABBOTT S, BARNARD R C, *et al*. Estimated transmissibility and impact of SARS-CoV-2 lineage B. 1. 1. 7 in England [J]. *Science*, 2021, 372 (6538): eabg3055. DOI: 10.1126/science.abg3055.
- [18] SABINO E C, BUSS L F, CARVALHO M P S, *et al*. Resurgence of COVID-19 in Manaus, Brazil, despite high seroprevalence [J]. *Lancet*, 2021, 397(10273): 452-455.
- [19] MAHASE E. Covid-19 Novavax vaccine efficacy is 86% against UK variant and 60% against South African variant [J]. *BMJ*, 2021, 372: n296. DOI: 10.1136/bmj.n296.
- [20] VANGEEL L, CHIU W, DE JONGHE S, *et al*. Remdesivir, molnupiravir and nirmatrelvir remain active against SARS-CoV-2 Omicron and other variants of concern [J]. *Antiviral Res*, 2022, 198: 105252.
- [21] Epidemiology Working Group for NCIP Epidemic Response. The epidemiological characteristics of an outbreak of 2019 novel coronavirus diseases (COVID-19) in China [J]. *Chin J Epidemiol*, 2020, 41 (2): 145-151. (in Chinese)  
中国疾病预防控制中心新型冠状病毒肺炎应急响应机制流行病学组. 新型冠状病毒肺炎流行病学特征分析 [J]. *中华流行病学杂志*, 2020, 41 (2): 145-151.
- [22] WU Z Y. Contribution of asymptomatic and pre-symptomatic cases of COVID-19 in spreading virus and targeted control strategies [J]. *Chin J Epidemiol*, 2020, 41 (6): 801-805. (in Chinese)  
吴尊友. 新型冠状病毒肺炎无症状感染者在疫情传播中的作用与防控策略 [J]. *中华流行病学杂志*, 2020, 41 (6): 801-805.
- [23] PARK C, LEE J, HASSAN Z U, *et al*. Comparison of digital PCR and quantitative PCR with various SARS-CoV-2 primerprobe sets [J]. *J Microbiol Biotechnol*, 2021, 31 (3): 358-367.
- [24] JUNG Y J, PARK G S, MOON J H, *et al*. Comparative analysis of primer-probe sets for the laboratory confirmation of SARS-CoV-2 [J]. 2020, 6 (9): 2513-2523.
- [25] NALLA A K, CASTO A M, HUANG M L W, *et al*. Comparative performance of SARS-CoV-2 detection assays using seven different primer-probe sets and one assay kit [J]. *J Clin Microbiol*, 2020, 58 (6): e00557-20. DOI: 10.1128/JCM.00557-20.
- [26] HOU Y J, OKUDA K, EDWARDS C E, *et al*. SARS-CoV-2 reverse genetics reveals a variable infection gradient in the respiratory tract [J]. *Cell*, 2020, 182 (2): 429-446, e14. DOI: 10.1016/j.cell.2020.05.042.