Journal of Marine Medicine
Supplement Issue 2021
Pages: 96-110
10.30491/3.4.96

A Review on Rapid Detection Methods of COVID-19

Mahtab Moshref [1], Mozhgan Taghdisi [1], Seyed Mohammad Jazayeri [2], Neda Soleimani[1], Seyed Mohammad Jalil Zorriehzahra [3 *], Mina Ziarati [4], Laleh Yazdanpanah Goharrizi [5], Maedeh Talebi [6], Seyed Sajedeh Mousavi [6]

[1] Departments of Microbiology and Microbial Biotechnology, Faculty of Life Sciences and Biotechnology, Shahid Beheshti, Tehran, Iran
[2] Clinical Virology Research Center, Department of Virology, Health Faculty, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
[3] Department of Information and Scientific Communication, Iranian Fisheries Science Research Institute (IFSRI), Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran
[4] Department of Microbiology, Faculty of Basic Sciences, Islamic Azad University, Jahrom, Iran
[5] Department of Animal Science Research, Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Kerman, Iran
[6] Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, Islamic Azad University, Lahijan, Iran

Received: 29 July 2021 **Accepted:** 31 August 2021

Abstract

In order to prevent the further spread of the COVID-19 pandemic caused by SARS-CoV-2, there is a need to develop rapid and reliable diagnostic tests. Given that there is currently no effective antiviral drug for COVID-19, the most important current strategy is to identify patients as soon as possible. Therefore, scientists and researchers are conducting experiments for rapid detection of asymptomatic carriers of COVID-19, to control and prevention of this epidemic.

Although some aspects of the structural and molecular characteristics of SARS-CoV-2 are unknown, various strategies for the correct diagnosis of COVID-19 have been proposed by research laboratories and medical companies, some of which are presented in the present study. According to studies, rapid antigen and antibody tests, immunoenzymatic serological tests, and RT-PCR-based molecular tests are the most widely used and valid diagnostic methods worldwide. In addition to these common methods, other methods include; techniques based on nucleic acid isothermal amplification, CRISPR/Cas based methods, new generation sequencing (NGS) techniques and biosensors are used in research fields to identify SARS-CoV-2.

In the present study, the recent technologies and techniques of various research institutes, as well as devices and commercial kits produced by companies for the diagnosis of COVID-19 are presented, so that familiarity with these efficient diagnostic methods is an important step in advancing scientific goals.

Keywords: COVID-19, Diagnostic methods, Molecular tests, Serological tests.

[Downloaded from jmarmed.ir on 2026-11-04]

[DOI: 10.30491/3.4.96]

*Corresponding author: Seyed Mohammad Jalil Zorriehzahra, **Email**: zorrieh@yahoo.com
Address: Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran

مجله طب دریا
ویژه نامه ۱۴۰۰
صفحات: ۱۱۰-۹۶
10.30491/3.4.96

مروری بر انواع تکنیک‌های تشخیص سریع کووید-۱۹

مهتاب مشرف [۱]، مژگان تقدیسی [۱]، سید محمد جزایری [۲]، ندا سلیمانی [۱]، سید محمد جلیل ذریه زهرا [۳]*، مینا زیارتی [۴]، لاله یزدانپناه گوهر ریزی [۵]، مائده طالبی [۶]، سیده ساجده موسوی [۶]

[۱] گروه میکروبیولوژی و بیوتکنولوژی میکروبی، دانشکده علوم و فناوری زیستی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران
[۲] مرکز تحقیقات ویروس شناسی بالینی، گروه ویروس شناسی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
[۳] مدیریت اطلاعات و ارتباطات علمی، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران
[۴] گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، جهرم، ایران
[۵] گروه تحقیقات علوم دامی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرمان، ایران
[۶] گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه آزاد اسلامی، لاهیجان، ایران

دریافت مقاله: ۱۴۰۰/۰۵/۰۷ **پذیرش مقاله:** ۱۴۰۰/۰۶/۰۹

چکیده

به منظور پیشگیری از گسترش هر چه بیشتر پاندمی کووید-۱۹ ناشی از سندرم تنفسی حاد کروناویروس۲ (SARS-CoV-2)، ضرورت توسعه روش‌های تشخیصی سریع و قابل اعتماد در جوامع علمی مطرح است. با توجه به اینکه در حال حاضر هیچ داروی ضد ویروسی مؤثری برای کووید-۱۹ وجود ندارد، مهم ترین استراتژی فعلی، شناسایی مبتلایان در اسرع وقت است. لذا، دانشمندان و محققان در حال انجام آزمایشاتی برای تشخیص سریع ناقلین بدون علامت کووید-۱۹ هستند که با تشخیص سریع و دقیق آن، نقش مهمی در کنترل و پیشگیری بیشتر این همه گیری ایفا نمایند.

با وجود ناشناخته بودن برخی از جنبه های مشخصات ساختاری و مولکولی SARS-CoV-2، استراتژی‌های مختلفی در تشخیص صحیح کووید-۱۹ توسط آزمایشگاه های تحقیقاتی و شرکت های پزشکی ارائه شده که در مطالعه حاضر برخی از آنها ارائه شده اند. طبق مطالعات انجام شده، تاکنون تست های سریع آنتی ژن و آنتی بادی، آزمایشات سرولوژی ایمونوآنزیمی و آزمایش های مولکولی مبتنی بر RT-PCR پرکاربردترین و معتبرترین روش های تشخیصی سراسر جهان هستند. علاوه بر روش‌های متداول ذکر شده، سایر روش‌ها از جمله؛ تکنیک‌های مبتنی بر تکثیر ایزوترمال اسید نوکلئیک، روش‌های مبتنی بر کریسپر (CRISPR/Cas)، تکنیک نسل جدید توالی یابی (NGS) و حسگرهای زیستی در زمینه های تحقیقاتی شناسایی این ویروس استفاده می شوند.

در مطالعه حاضر فناوری ها و تکنیک های اخیر مؤسسات تحقیقاتی مختلف و همچنین دستگاه‌ها و کیت‌های تجاری تولید شده شرکت‌ها برای تشخیص کووید-۱۹ ارائه شده است تا با آشنایی این روش های تشخیصی کارآمد، گامی مهم در پیشبرد اهداف علمی پژوهشی برداشته شود.

کلیدواژه‌ها: کووید-۱۹، روش‌های تشخیصی، آزمایش‌های مولکولی، آزمایش‌های سرولوژیک.

*نویسنده مسئول: **سید محمد جلیل ذریه زهرا**. پست الکترونیک: zorrieh@yahoo.com
آدرس: موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران.

[Downloaded from jmarmed.ir on 2026-11-04]

[DOI: 10.30491/3.4.96]

مقدمه

چندین ویروس از خانواده کروناویروس‌ها، مسئول بیماری‌های عفونی در میان انسان‌ها و حیوانات هستند (۱). کروناویروس‌ها، ویروس‌هایی با اندازه متوسط، پوشش‌دار و RNA دار تک رشته (رشته مثبت) هستند که در بین انسان‌ها گسترش می‌یابند و معمولاً باعث بیماری‌های تنفسی می‌شوند (۲). در حال حاضر، بسیاری از کروناویروس‌های انسانی (HCoVs)، مانند HCoV-299E، HCoV-NL63، HCoV-HKU1 و HCoV-OC43، منشا بیماری های تنفسی خفیف هستند (۳). اعضای دیگر خانواده کروناویروس مانند جنس بتاکروناویروس از حیوان به انسان منتقل شده و با شیوع بیماری‌های شدید تنفسی مانند سندرم تنفسی خاورمیانه (MERS) و سندرم حاد تنفسی شدید (SARS) سلامت انسان را تهدید می‌کنند (۴). در دسامبر ۲۰۱۹، شیوع یک کروناویروس جدید به نام SARS-CoV-2 برای اولین بار در شهر ووهان چین گزارش شد و بیماری عفونی تنفسی ناشی از آن کووید-۱۹ نام گرفت. کووید-۱۹ یک بیماری تنفسی است با علائمی شبیه به آنفلوانزا که به صورت سرفه خشک، تب، سردرد شدید و خستگی بروز می‌کند. افراد مبتلا به کووید-۱۹ طیف گسترده ای از علائم بیماری تنفسی خفیف تا بیماری تنفسی شدید را نشان می دهند و در مواردی با آسیب عملکرد عضو، از جمله آسیب قلبی، آسیب حاد کلیوی، اختلال عملکرد کبد و سندرم زجر تنفسی حاد، بروز کرده که می‌تواند منجر به کاهش طولانی مدت عملکرد ریه و آریتمی شود. این کروناویروس به سرعت در سراسر جهان گسترش یافته و از زمان شروع بیماری، تعداد مبتلایان و میزان مرگ و میر به طور مداوم رو به افزایش بوده است (۵). به همین جهت، شناسایی ناقلین بدون علامت و مبتلایان در استراتژی‌های مبارزه با شیوع همه گیری حائز اهمیت هستند.

در حال حاضر، روش‌های تشخیصی متعددی توسط مؤسسات تحقیقاتی در سراسر جهان تأیید شده است. بنابراین، بدیهی است که انتخاب آزمایش تشخیصی بهینه می تواند دشوار باشد (۶). برای انتخاب کارآمدترین آزمایش تشخیصی چندین پارامتر باید در نظر گرفته شود؛ بر این مبنا که یک تست تشخیصی مؤثر و دقیق از حساسیت و اختصاصیت خوبی برخوردار باشد، سریع، قابل تکرار و مبتنی بر فناوری‌های موجود در مراکز متعدد و همچنین مقرون به صرفه باشد تا بتواند برای بخش عمده‌ای از مردم انجام شود. هدف اصلی مطالعه حاضر، ارائه یک مرور جامع در مورد روش‌های جدید توسعه یافته و همچنین تکنیک های بالقوه تشخیص بیماری های ویروسی به ویژه کووید-۱۹ است بدین صورت که با ارزیابی مزایا و معایب هر روش و انتخاب روش مناسب برای کنترل موثر چنین بیماری هایی، به محققان کمک شود (۷).

اهمیت تشخیص سریع کروناویروس

بیماری همه گیر کووید-۱۹ اهمیت تشخیص آزمایشگاهی را در مدیریت شرایط اضطراری بهداشتی که به طور گسترده ای بر ساختار اجتماعی، اقتصادی و بهداشتی کل جهان تأثیر گذاشته، برجسته کرده است. تشخیص سریع و مؤثر برای شناسایی افراد آلوده و مشکوک به این سندرم حاد تنفسی، نظارت بر عفونت، ردیابی تماس، یافتن روش درمانی مناسب برای افراد آلوده و تولید واکسن که منجر به کاهش خطر شیوع عفونت می شود، همچنین، کاهش فشار بر سیستم مراقبت های بهداشتی و کاهش هزینه های مراقبت برای افراد و دولت از ضروریات است. اگرچه علائم بالینی کووید-۱۹، مانند تب، سرفه، تنگی نفس، آسیب حاد کلیوی و آسیب کبدی ممکن است به کادر درمان در تشخیص اولیه بیماری کمک کند، اما تشخیص نهایی کووید-۱۹ در بیماران توسط تست‌های تأیید شده شامل؛ سی‌تی اسکن ریه، آزمایشات مولکولی و آزمایشات سرولوژیک مشخص می گردد. از زمان آغاز شیوع کرونا، چندین روش تشخیصی از جمله سنجش‌های مولکولی، سرولوژیک و اخیراً حسگرهای زیستی ایجاد شده است (شکل-۱) (۸).

از آنجایی‌که SARS-CoV-2 یک ویروس RNAدار است، بنابراین می‌توان به طور بالقوه از تمام تست های تشخیصیRNA موجود، برای شناسایی آن استفاده کرد. همچنین به منظور سازگاری با تست های تشخیصی DNA، می‌توان ژنوم ویروس را توسط ترانس کریپتاز معکوس به مکمل DNA رونویسی کرد. علاوه براین؛ طیف گسترده ای از آزمایش های سرولوژیک برای شناسایی آنتی بادی های تولید شده علیه این ویروس به منظور بررسی پاسخ ایمنی افراد و همچنین برای ارزیابی اثرگذاری واکسیناسیون در آینده، طراحی شده است (۹). طی ماه های گذشته، همه فناوری‌های در حال بهره برداری برای توسعه سریع سنجش شناسایی بسیار حساس و خاص این سندرم به کار رفته اند؛ زیرا تشخیص زودهنگام، این امکان را فراهم می کند که مداخلات درمانی برای افراد در معرض خطر بیشتر، سریعتر ارائه شود و همچنین در شناسایی ناقلین بدون علامت و ایزوله کردن هرچه سریعتر آنان کمک کننده باشد که این امر خود موجب جلوگیری از زنجیره انتقال بیماری می‌گردد (۱۲-۱۰).

روش های توسعه یافته برای تشخیص کووید-۱۹

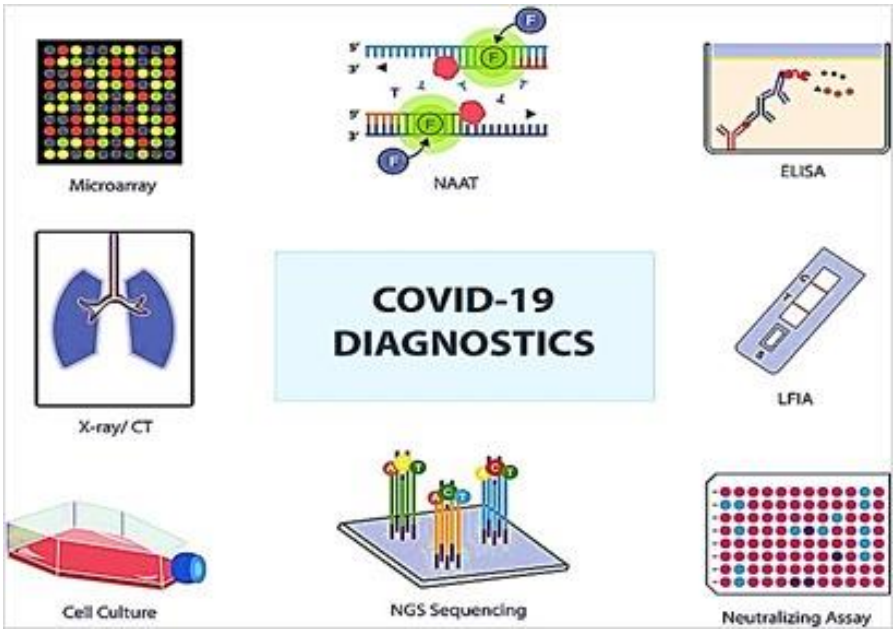
تشخیص کروناویروس با استفاده از کشت سلول و میکروسکوپ الکترونی

کشت سلول و به دنبال آن تکنیک های میکروسکوپ الکترونی، در شناسایی بیماری های نوظهور و عوامل بیماریزا و همچنین برای مشاهده خصوصیات اصلی کروناویروس نقش بسیار مهمی دارند. در بیماری همه‌گیر کووید-۱۹، این روش‌ها برای تشخیص و اهداف تحقیقاتی استفاده می‌شوند. در این روش، به دنبال شناسایی اولیه SARS-CoV-2 با تعیین توالی، هویت ویروس جدید از طریق میکروسکوپ ایمونوفلورسانس تأیید می‌شود. استفاده از میکروسکوپ و کشت سلول بینشی در مورد

[Downloaded from jmarmed.ir on 2026-11-04]

[DOI: 10.30491/3.4.96]

ساختار، تروپیسم سلولی، پاتوژنز، قابلیت انتقال و تکثیر و تعامل ویروس با میزبان را فراهم می کند. به طور کلی، این تکنیک ها امکان شناسایی ویژگی های اصلی ویروس را فراهم کرده اند، که به محققان امکان توسعه سیستم های تشخیصی مورد استفاده و همچنین ارائه اولین روش های درمانی برای عفونت کووید-۱۹ را می‌دهد. علیرغم اهمیت کشت ویروسی و میکروسکوپ الکترونی، کشت ویروسی وقت گیر است و به تجهیزات خاص و سطح بالای ایمنی زیستی نیاز دارد. به همین دلیل، WHO توصیه کرده است که کشت این کروناویروس فقط در آزمایشگاه با ایمنی زیستی (BSL: Biological Safety Level) سطح ۳ باید انجام شود. از طرف دیگر، میکروسکوپ الکترونی کاربرد زیادی ندارد زیرا به ابزارهای پرهزینه و پرسنلی کاملاً آموزش دیده با مهارت های خاص در زمینه تهیه نمونه و تفسیر تصاویر میکروسکوپ الکترونی نیاز دارد. علاوه بر این، روش ذکر شده دارای حساسیت و اختصاصیت تشخیصی پایینی بوده و تنها در صورت وجود کشت ویروسی مناسب می توان نتایج بهینه ای را بدست آورد (۱۴،۱۳).



شکل-۱. شماتیکی از روش‌های مختلف تشخیصی کووید-۱۹ (۱۲)

تشخیص کروناویروس با استفاده از روش رادیولوژی

یافته های تصویربرداری رادیولوژیک مانند رادیوگرافی قفسه‌سینه (CXR)، سونوگرافی قفسه سینه (US)، سونوگرافی ریه (LUS) و به ویژه توموگرافی کامپیوتری قفسه سینه (CT Scan) به عنوان روش تشخیصی مکمل و در برخی موارد به عنوان روش استاندارد تشخیص کووید-۱۹ بکار گرفته می شوند. مطالعات نشان می دهد CT قفسه سینه ابزاری مفید در تشخیص عفونت کووید-۱۹ است. تصویربرداری در ارزیابی شدت و پیشرفت عفونت کووید-۱۹ بسیار کمک کننده است و همچنین می تواند کروناویروس را در شرایطی که واکنش زنجیره ای پلیمراز معکوس رونویسی منفی کاذب می‌باشد، تشخیص دهد. بسیاری از یافته‌های رادیولوژیک کووید-۱۹ غیراختصاصی بوده و در طیف وسیعی از سایر بیماری‌های ریوی نیز قابل مشاهده هستند؛ لذا میتوان گفت که اختصاصیت کمتری نسبت به روش RT-PCR دارد. اما در صورت وجود ضایعات رادیولوژیکی شاخص به همراه یافته‌های کلینیکی و یا سابقه مثبت تماس با فرد آلوده می تواند مطرح کننده عفونت کروناویروسی باشد (۱۶،۱۵).

واکنش زنجیره ای پلیمراز معکوس رونویسی

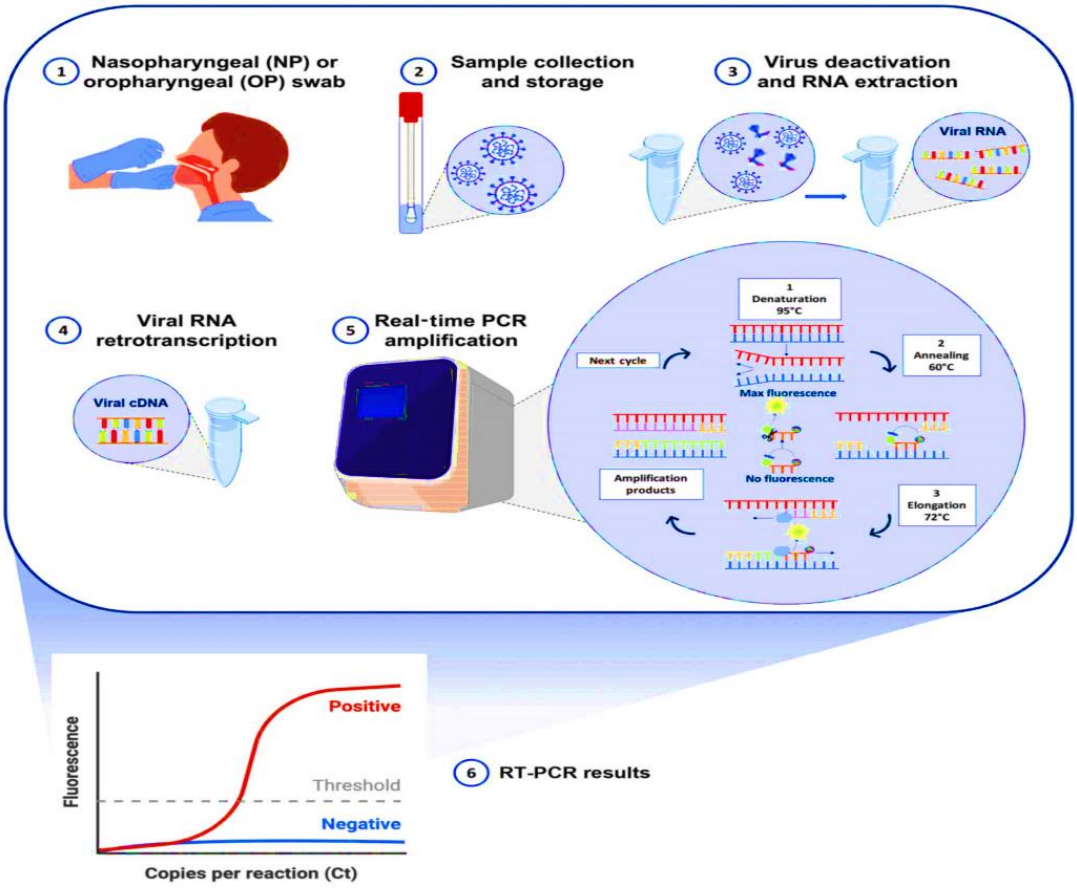
واکنش زنجیره ای پلیمراز معکوس رونویسی (RT-PCR) به دلیل توانایی در تکثیر مقدار کم ماده ژنتیکی کروناویروس به عنوان روش استاندارد طلایی برای شناسایی کووید-۱۹ در نظر گرفته می‌شود. در حال حاضر، آزمایشات RT-PCR برای SARS-CoV-2 معمولاً از نمونه‌های جمع‌آوری شده از سیستم تنفسی فوقانی با استفاده از سواب، انجام می گیرد. علاوه بر این، چند مطالعه با استفاده از سرم، مدفوع یا ترشحات چشم انجام شده است (۱۹-۱۷). اخیراً، آزمایشگاه ژنومیک بالینی Rutgers یک آزمایش RT-PCR (TaqPath COVID-19Combo kit) طراحی کرده و از نمونه های بزاق جمع آوری شده توسط خود بیمار استفاده می‌کند. این روش سریعتر بوده و درد کمتری نسبت به سایر روش های جمع آوری نمونه دارد و همچنین سبب کاهش خطرات احتمالی کادر درمان و افزایش حجم نمونه می‌گردد (۲۱،۲۰). همانطور که در شکل-۲ نشان داده شده است، RT-PCR با تبدیل RNA ژنومی ویروس به DNA توسط DNA پلیمراز وابسته به RNA (ترانس کریپتاز معکوس) شروع می‌شود. این واکنش

[Downloaded from jmarmed.ir on 2026-11-04]
[DOI: 10.30491/3.4.96]

براساس توالی‌های آغازگر کوچک DNA طراحی شده است، که به طور خاص توالی های مکمل را در RNA ژنوم ویروس شناسایی کند تا ترانس کریپتاز معکوس یک کپی DNA مکمل کوتاه (cDNA) از RNA ویروسی سنتز نماید. این کار با استفاده از یک رنگ فلورسنت یا یک پروب که با یک مولکول فلورسنت و یک مولکول خاموش کننده لیبل دار شده است، مانند روش TaqMan انجام می شود. سپس یک سیستم خودکار فرایند تکثیر را برای حدود ۴۰ دوره تکرار می کند تا زمانی که cDNA ویروسی، معمولاً توسط یک سیگنال فلورسنت یا الکتریکی شناسایی شود (۲۲).

RT-PCR به طور معمول به روش یک مرحله‌ای یا دو مرحله‌ای انجام می شود. در RT-PCR یک مرحله‌ای کل واکنش، از سنتز cDNA تا تکثیرPCR، در یک میکروتیوب واحد انجام می‌گیرد. درحالیکه در روش دو مرحله ای سنتز cDNA و تکثیر، در لوله‌های جداگانه انجام می‌شود. اگرچه روش دو مرحله‌ای انعطاف‌پذیری و حساسیت بیشتری نسبت به روش یک مرحله‌ای دارد و همچنین مواد اولیه کمتری جهت آغاز واکنش نیاز دارد، اما روش یک مرحله ای روش ترجیحی برای تشخیص کووید-۱۹ است زیرا سریع راه اندازی می شود و نیاز چندانی به مدیریت نمونه نداشته و درنتیجه خطرات مربوط به پیپت کردن و آلودگی طی مراحل رونویسی معکوس و تکثیر کاهش می‌یابد (۲۳).

تا به امروز، اکثر آزمایش های تشخیصی مولکولی از فناوری RT-PCRاستفاده کرده‌اند که مناطق مختلفی از ژنوم کروناویروس را هدف قرار داده است، از جمله مناطق ORF1b یا ORF8و ژن‌های نوکلئوکپسید (N)، پروتئین اسپایک (S)، RNA پلیمراز وابسته به DNA (RdRp) و پروتئین پوششی (E) (۲۷-۲۴). سنجش‌هایی که پروتئین پوششی E را هدف قرار داده اند، مشخص شده است که به سایر سویه های کروناویروس‌ها شباهت دارد. از طرف دیگر، همسانی کم ژن های RdRp، N و S در کروناویروس با آنهایی که در سایر ویروس های وابسته به خفاش هستند، این ژن ها را به اهداف خاصی برای شناسایی تبدیل کرده است. در آزمایشگاه‌ها برای افزایش حساسیت تشخیصی از روش های چندگانه استفاده شده است که چندین ژن را به طور همزمان هدف قرار می دهند یا مناطق مختلف را در همان ژن هدف شناسایی می کنند. به طور کلی، RT-PCR به دلیل حساسیت و اختصاصیت زیاد و همچنین توانایی پردازش تعداد زیادی نمونه، متداول ترین روش برای تشخیص کووید-۱۹ است. اما دارای معایبی نیز می‌باشد که می‌توان به ابزار آزمایشگاهی گران قیمت، پرسنل آزمایشگاهی ماهر و مدت زمان طولانی برای دریافت جواب اشاره نمود. در نتیجه، تعدادی از شرکت ها و آزمایشگاه ها در سراسر جهان در تلاشند تا کارایی فناوری RT-PCR را بهبود بخشند و تکنیک های مختلف دیگری را توسعه دهند.



شکل-۲. واکنش زنجیره ای پلیمراز معکوس رونویسی (RT-PCR) (۱۲)

[Downloaded from jmarmed.ir on 2026-11-04]

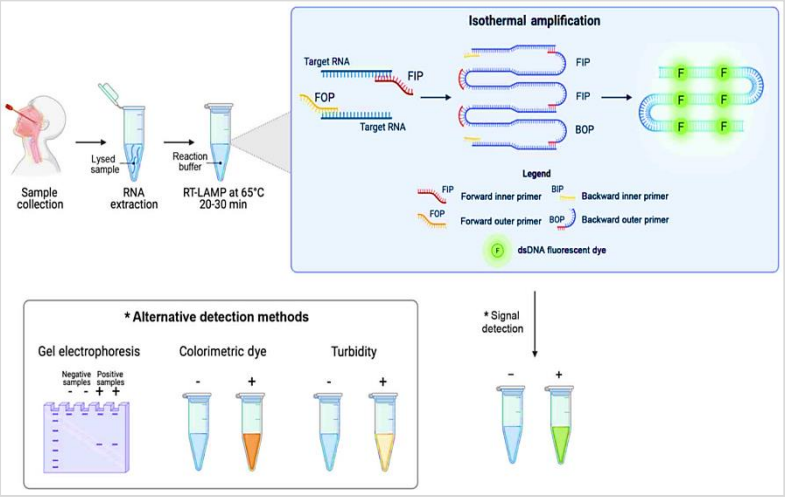
[DOI: 10.30491/3.4.96]

تکثیر ایزوترمال اسید نوکلئیک

RT-PCR برای هر چرخه به تغییرات چندگانه دما نیاز دارد که مستلزم تجهیزات چرخه حرارتی پیچیده است. تکثیر ایزوترمال اسید نوکلئیک توالی هدف را در دمای ثابت تکثیر می‌کند و نیاز به چرخه حرارتی را برطرف می کند. بنابراین، چندین روش مبتنی بر این تکنیک توسعه یافته است که در ادامه به اختصار توضیح داده شده است (۲۸).

- **تکثیر ایزوترمال مبتنی بر لوپ**

RT-LAMP به عنوان یک آزمایش سریع و مقرون به صرفه برای کووید-۱۹است. سیستم‌های LAMP از جمله متداولترین روش‌های تکثیر اسید نوکلئیک برای تشخیص بیماری‌های عفونی هستند. در رابطه با این سندرم توسعه یافته، چندین سیستم RT-LAMP برای شناسایی دقیق RNA ویروسی ایجاد شده است و نشان می دهد که چگونه این روش ها می‌توانند با سایر روش های تشخیصی از جمله NGS، سیستم های تشخیص دیجیتال، حسگرهای زیستی و غیره همراه شوند. همانطور که در شکل-۳ نشان داده شده است، RT-LAMP به ۴ آغازگر خاص برای ژن یا منطقه هدف نیاز دارد و LAMP را با یک مرحله رونویسی معکوس به منظور شناسایی RNA ترکیب می‌کند. سپس محصول این تکثیر می‌تواند از طریق فوتومتری شناسایی شود و میزان کدورت ناشی از پیرو فسفات منیزیم را می‌توان اندازه‌گیری نمود. محصولات تکثیر شده نهایی این واکنش را می‌توان با کمک الکتروفورز ژل آگارز، لیبل فلورسانس، کدورت یا رنگ سنجی برای بازخوانی فوری داده‌های به دست آمده و تشخیص سریع عفونت کووید-۱۹ مشاهده کرد. به طور کلی، آزمایش های RT-SARS-CoV-2 LAMP از حساسیت و اختصاصیت بالایی برخوردار هستند و برخی از آنها برای اهداف تشخیصی توسط آژانس‌های مختلف ملی در سراسر دنیا و بین المللی تأیید شده اند. برخی مطالعات حساسیت ۱۰۰ درصد را برای تشخیص ژن ORF1ab کروناویروس گزارش کرده اند (۲۹). در میان روش‌های RT-LAMP، روش ID NOW COVID-19 ™ توسط FDA با مجوز استفاده اضطراری تأیید شده است. این سیستم مبتنی بر RT-LAMP با شناسایی ژن RdRp کروناویروس در ۵ دقیقه مورد استفاده قرار می گیرد. از آنجا که آزمایش تشخیصی RT-LAMP فقط به گرمایش و بازرسی بصری نیاز دارد، سادگی و حساسیتش آن را به عنوان یک کاندید امیدوارکننده برای شناسایی ویروس معرفی می‌کند. این تست سریع است (۱۳ دقیقه یا کمتر) و برای تشخیص RNA ویروسی در سواب‌های تنفسی فوقانی استفاده شده، اما هر بار انجام واکنش به یک نمونه محدود می‌شود (۳۰،۲۹).



شکل-۳ . تکثیر ایزوترمال مبتنی بر لوپ (RT-LAMP) (۱۲)

- **تکثیر مبتنی بر رونویسی**

تکثیر به واسطه رونویسی (Transcription-Mediated Amplification :TMA) یک تک لوله است که می‌تواند برای تکثیر مناطق خاصی از RNA یا DNA بسیار کارآمدتر از RT-PCR باشد (۳۰). این روش از ترانس کریپتاز معکوس رترو ویروسی و RNA پلیمراز T7 برای تشخیص اسیدهای نوکلئیک چندین عامل بیماری زا استفاده می‌کند. بر اساس این اصل، پلتفرم Panther Hologic's fusion توانایی انجام RT-PCR و TMA را دارد. این روش، به دلیل توان عملیاتی بالای آزمایش (حداکثر هزار آزمایش در ۲۴ ساعت) می تواند همزمان سایر ویروس های تنفسی رایج با علائم مشابه کووید-۱۹ را با همان نمونه بیمار غربالگری کند. مرحله اولیه شامل هیبریدیزاسیون RNA ویروسی به یک پروب خاص و یک الیگونوکلئوتید حاوی یک آغازگر پروموتر T7 است که روی ذرات میکرو مغناطیسی قرار گرفته می‌شود. سپس، RNA هدف که با آغازگر پروموتر T7 هیبرید شده است، به صورت cDNA رونویسی می‌شود. در مرحله بعد RNaseH ترانس کریپتاز معکوس رشته RNA هدف را از دوبلکس ترکیبی RNA-cDNA جدا می‌کند و cDNA تک رشته

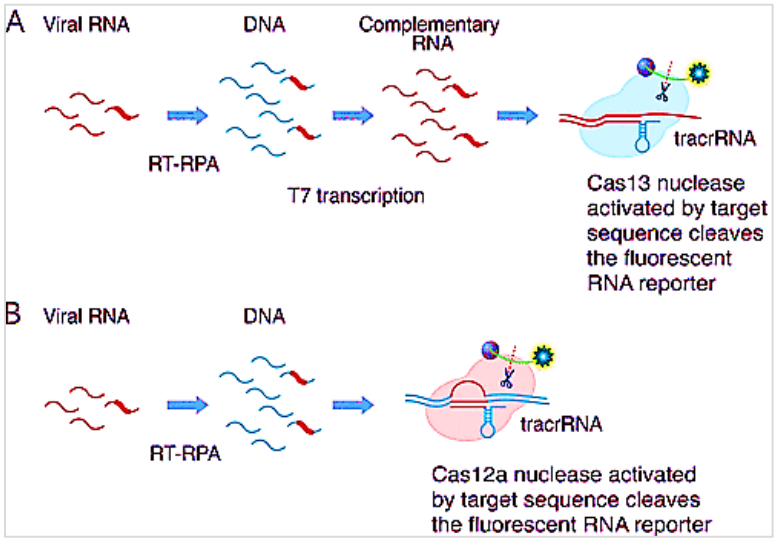
[Downloaded from jmarmed.ir on 2026-11-04]
[DOI: 10.30491/3.4.96]

که شامل پروموتر T7 است باقی می‌ماند. از یک پرایمر اضافی برای تولید DNA دو رشته‌ای استفاده می‌شود که متعاقباً توسط RNA پلیمراز T7 به آمپلیکون‌های RNA رونویسی می‌شود. سپس این آمپلیکون‌های RNA وارد فرآیند TMA می‌شوند که میلیاردها آمپلیکون RNA در کمتر از یک ساعت تولید می‌شود. فرآیند شناسایی با استفاده از اسید نوکلئیک تک رشته ای است که به طور خاص به آمپلیکون RNA هیبرید می‌شوند. هر نوکلئیک اسید به یک فلوروفور و یک خاموش کننده متصل می‌گردد. هنگامی که نوکلئیک اسید به آمپلیکون RNA هیبرید می‌شود، فلوروفور قادر است هنگام برانگیخته شدن سیگنالی منتشر کند (۳۱).

- **سنجش های مبتنی بر کریسپر** CRISPR

سیستم CRISPR/Cas انقلابی در زمینه زیست شناسی مولکولی ایجاد کرده است که امکان ویرایش ژنوم را فراهم می کند. این فناوری که جایزه نوبل شیمی را در سال ۲۰۲۰ دریافت کرد؛ کاربردها و پتانسیل های تقریباً نامحدودی از جمله ویرایش ژنوم، تشخیص، درمان و تنظیم ژن دارد. به طور کلی؛ CRISPR، تکرار کوتاه پالیندرومیک خوشه ای و منظم هستند که نمایانگر خانواده‌ای از توالی‌های اسید نوکلئیک می‌باشند و در موجودات پروکاریوتی، مانند باکتری‌ها یافت می‌شوند. این توالی‌ها را می‌توان با مجموعه‌ای از آنزیم‌های باکتریایی، آنزیم‌های مرتبط با CRISPR، شناسایی کرد و برش داد که نمونه های آن 9Cas، 12Cas و 13Cas است (۳۲). آنزیم‌های خاصی در خانواده‌های 12Cas و 13 Cas می توانند برای هدف قرار دادن و بریدن توالی RNAویروسی برنامه‌ریزی شوند. دو شرکت Mammoth Biosciences و Sherlock Biosciences که توسط دانشمندان پیشگام CRISPR تأسیس شده‌اند، به طور مستقل امکان استفاده از روش CRISPR را برای تشخیص کووید-۱۹ بررسی می‌کنند (۳۳). این روش‌های مبتنی بر CRISPR، همان‌طور که در شکل-۴ نشان داده شده است، به ابزار دقیق و پیچیده‌ای نیاز ندارند و می‌توان آنها را با استفاده از نوارهای کاغذی برای تشخیص کووید-۱۹ بدون از دست دادن حساسیت یا اختصاصیت خواند. این آزمایشات هر دو کم هزینه هستند و در کمتر از ۱ ساعت قابل انجام هستند (۳۵،۳۴).

در میان سیستم‌های متداول، روش Sherlock ™ CRISPR SARS-CoV-2 توسط FDA آمریکا برای استفاده اضطراری تأیید شده است. این سیستم بر اساس فعالیت نوکلئاز Cas13a از دو مرحله مختلف تشکیل شده است. مرحله اول-RT LAMP است، جایی که RNA ویروسی به‌صورت معکوس به cDNA رونویسی می‌شود و سپس از طریق LAMP تکثیر می‌گردد. مرحله دوم شامل رونویسی RNA و شکاف است که توسط مجموعه CRISPR / Cas13a انجام می‌گیرد و می‌تواند یک توالی خاص در SARS-CoV-2 را هدف قرار دهد. شکاف RNA در SARS-CoV-2 منجر به سیگنال فلورسنت می‌شود که به راحتی قابل تشخیص است. این سیستم در مقایسه با-RT PCR، با ۱۰۰ درصد حساسیت منجر به تشخیص صحیح کووید-۱۹ در نمونه‌های بالینی می‌گردد.



شکل-۴. دو روش مبتنی بر کریسپر به منظور شناسایی RNA ویروس (A. روش SHERLOCK , B. روش DETECTOR) (۳۶)

- **تکثیر مبتنی بر دایره غلطان**

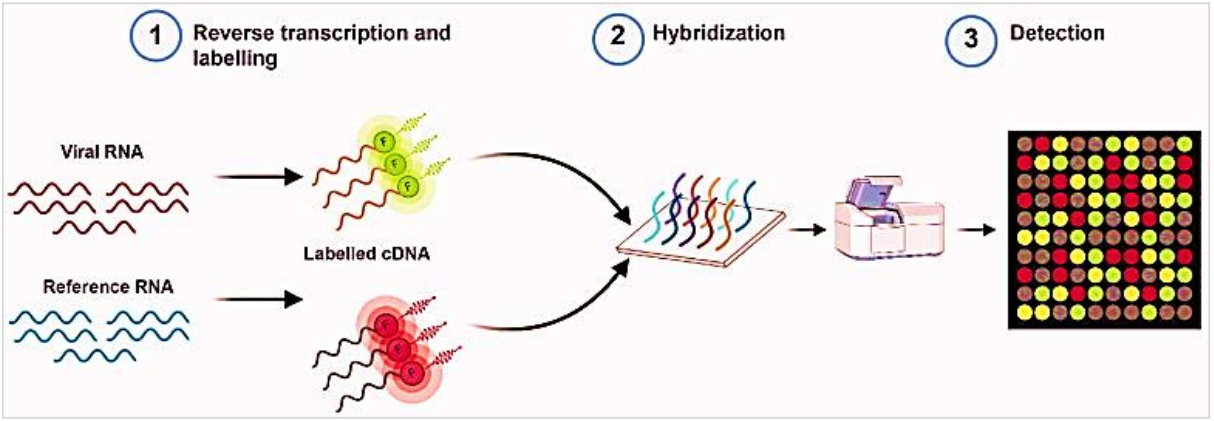
تکثیر به روش دایره غلطان (RCA: Rolling Circle Amplification) یکی دیگر از روش‌های تشخیصی تکثیر ایزوترمال است که توجه زیادی را برای تشخیص اسید نوکلئیک جلب کرده است. این روش بسیار حساس بوده و قادر به تولید ۱۰۹ سیگنال تکثیر در هر دور در عرض ۹۰ دقیقه می‌باشد. RCA از این جهت سودمند است که می‌تواند تحت شرایط ایزوترمال با حداقل مواد انجام شود و از ایجاد نتایج مثبت کاذب که اغلب در

[Downloaded from jmarmed.ir on 2026-11-04]
[DOI: 10.30491/3.4.96]

سنجش‌های مبتنی بر PCR مشاهده می‌شود، جلوگیری کند. یک روش کارآمد RCA برای تشخیص کووید-۱۹ قبلاً در دو مرحله مایع و جامد برای آزمایش نمونه های تنفسی بالینی استفاده شده است. اما در حال حاضر این روش برای شناسایی کووید-۱۹ توسعه نیافته است (۳۷).

هیبریدیزاسیون نوکلئیک اسید توسط تکنیک میکروآرایه

ریزآرایه ابزاری چند منظوره است که در مطالعات تشخیصی، تحقیقاتی و اپیدمیولوژیک استفاده می شود. این روش اجازه می‌دهد تا رفتار ژنومی پاتوژن، پاسخ ایمونوژنیک به مراحل مختلف بیماری، فعل و انفعالات آنتی ژن – آنتی بادی، واکنش متقابل بین گونه‌ها و پروتئین های هدف مورد استفاده به عنوان نشانگرهای زیستی در یک سیستم واحد مورد بررسی قرار گیرد. از روش های ریزآرایه برای تشخیص سریع و با کارایی بالای اسیدهای نوکلئیک سندرم حاد تنفسی استفاده شده است. همانطور که در شکل-۵ نشان داده شده است؛ این روش ها مبتنی بر تولید cDNA از RNA ویروسی با استفاده از رونویسی معکوس و به دنبال آن نشاندار کردن cDNA با پروب های خاص هستند. سپس cDNA های نشاندار شده در داخل چاهک های میکرو آرایه که دارای اولیگونوکئوتیدهای تثبیت شده در سطحشان هستند قرار می‌گیرند. در صورت هیبرید شدن نوکلئوتیدها با یکدیگر، سیگنالی منوط بر حضور نوکلئیک اسید ویروسی تولید می‌گردد (۳۸). روش ریزآرایه در شناسایی جهش های مرتبط با کروناویروس نوظهور مفید شناخته شده است و برای شناسایی حداکثر ۲۴ پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی (SNP) مرتبط با جهش در ژن اسپایک (S) با دقت ۱۰۰درصد استفاده شده است (۳۹). با همه‌گیری کووید-۱۹، شناسایی گونه‌های نوظهور کروناویروس اهمیت بسیار زیادی دارد به همین جهت روش های تشخیصی مبتنی بر ریزآرایه یک پلتفرم برای تشخیص سریع این گونه های جدید فراهم می‌کند. اگر چه یکی از مشکلات آزمایش ریزآرایه، هزینه بالای مرتبط با آن می باشد اما به طور کلی یک آزمایش الیگونوکلئوتیدی غیرفلورسنت و کم هزینه جهت شناسایی چندین سویه کروناویروس با حساسیت برابر با RT-PCR می‌باشد (۴۰).



شکل-۵. هیبریداسیون نوکلئیک اسید با استفاده از میکرو آرایه. cDNA ویروسی و cDNA مرجع با لیبل های مختلف فلورسنت ترکیب شده و در چاهک های ریزآرایه پوشانده شده با پروب های اختصاصی DNA قرار می گیرد (۴۱).

توالی متاژنومیک مبتنی بر امپلیکون

این روش تشخیصی برای شناسایی کووید-۱۹ مبنی به یک رویکرد دوگانه شامل استفاده از توالی مبتنی بر آمپلیکون به همراه تعیین توالی متاژنومیک است. توالی متاژنومیک در درجه اول برای بررسی میکروبیوم افراد آلوده استفاده می‌شود. این تکنیک این امکان را فراهم می‌کند تا بتوان سریعاً کروناویروس و سایر عوامل بیماری‌زای ایجاد کننده عفونت های ثانویه مؤثر بر تشدید علائم کووید-۱۹ را شناسایی کرد. تعیین توالی ویروس بر پایه آمپلیکون امکان بررسی اپیدمیولوژی مولکولی و مطالعات تکامل ویروسی را فراهم می کند. توالی یابی مبتنی بر آمپیکلون و متاژنومیک MinION توسط Moore و همکاران برای تعیین توالی سریع (۸ ساعت) ژنوم کروناویروس و دیگر میکروبیوم ها در سواب‌های نازوفارنکس که از بیماران کووید-۱۹ به دست آمده است، مورد استفاده قرار می‌گیرد. در این روش، از ۱۶ پرایمر که به مناطق حفاظت شده در ژنوم ویروس متصل می‌شوند به منظور تکثیر قطعات bp ۱۰۰۰ با نواحی همپوشان ۲۰۰bp مورد استفاده قرار می‌گیرد. سپس این پرایمرها برای تولید ۳۰ آمپلیکون از cDNA مورد استفاده قرار گرفته و متعاقباً با استفاده از MinION توالی‌یابی می شوند (۴۳،۴۲).

بیوسنسور

حسگرهای زیستی (بیوسنسور) دستگاه‌های مهمی در تشخیص بالینی، فرآوری مواد غذایی و نظارت بر محیط برای تشخیص انواع آنالیت ها، به ویژه ویروس ها هستند. حسگرهای زیستی روش‌های تحلیلی هستند که پاسخ های بیولوژیکی را به سیگنال های کمی قابل مقایسه در ارتباط با یک هدف خاص تبدیل

[Downloaded from jmarmed.ir on 2026-11-04]
[DOI: 10.30491/3.4.96]

می‌کنند. حسگرهای زیستی مبتنی بر آپتامرها که به عنوان Aptasensors شناخته می‌شوند حاوی الیگونوکلئوتیدهای ریبونوکلئیک اسید تک رشته‌ای یا دئوکسی ریبونوکلئیک اسید هستند که میل و ویژگی بالا برای اتصال دارند و برای تشخیص انواع بیماری‌های عفونی استفاده می‌شوند. حوزه تحقیقاتی بیوسنسورها در سال ۱۹۶۲ با طراحی بیوسنسور گلوکز اکسیداز که توسط کلارک و لیونز معرفی گردید، آغاز شده است. پس از آن، کاربردهای زیادی از حسگرها و حسگرهای زیستی شرح داده شد. بیوسنسورها از دهه های قبل توسط متخصصان بیوتکنولوژی اختراع شده است تا با شناسایی نشانگرهای زیستی، باکتری ها و ویروس ها را تشخیص دهند. حسگرهای زیستی شامل ۳ عنصر اصلی هستند: گیرنده زیستی، مبدل و سیستم پردازش سیگنال. مؤلفه گیرنده‌های زیستی حسگرها، ممکن است آنتی‌بادی مونوکلونال، اسیدهای نوکلئیک، گلیکان، لکتین، آنزیم، بافت یا سلول کامل با یک نشانگر زیستی باشند. مبدل، فعل و انفعالات را به یک سیگنال قابل اندازه گیری تبدیل می کند، سپس شناسایی کیفی و کمی پاتوژن با نمایش سیگنال‌ها گزارش داده می‌شود (۴۴).

در چند دهه گذشته، نوآوری در تحقیقات مربوط به بیوسنسور منجر به افزایش استثنایی در توسعه و عملکرد آنان شده است. بر اساس فناوری انجام شده، ۴ نوع حسگر زیستی وجود دارد؛ حسگرهای زیستی نوری، حسگرهای زیستی الکتروشیمیایی، حسگرهای زیستی پیزوالکتریک و حسگرهای زیستی حرارتی. حسگرهای زیستی نوری به دلیل استفاده ایمن، مستقیم و استفاده از فناوری مقرون به صرفه، از جمله عدم نیاز به تکثیر اسید نوکلئیک، یک روش مناسب برای تشخیص ویروس می‌باشند. از فلورسانس، پلاسمون های سطحی و تکنیک های رنگ سنجی قبلاً برای تشخیص HIV، ابولا، نورو ویروس و ویروس آنفلوانزا و سایر موارد استفاده شده است. در حال حاضر تحقیقات بسیار زیادی برای استفاده از این روش های تصویربرداری برای شناسایی کووید-۱۹ آغاز شده است (۴۶،۴۵).

تکنیک نسل جدید توالی یابی (NGS)

نسل جدید توالی یابی (NGS) را توالی پربار (HTS) نیز می نامند. با استفاده از این روش می‌توان توالی ژنومی، حتی بیش از ۱ میلیون جفت باز، را در یک آزمایش تعیین کرد. با استفاده از این روش می‌توان بیماری های ارثی، سرطان و بیماری های عفونی را تشخیص داد. پیش از این، در انگلستان نیز از همین فناوری برای ردیابی شیوع ناشی از استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم در برابر متی سیلین (MRSA)، با دقت و ردیابی بالا حتی در یک بیمار استفاده شده بود، در حالی که سایر روش‌های نظارتی معمول نمی‌توانند این کار را با همین دقت انجام دهند. NGS نه تنها به کشف سویه های ویروسی جدید در مقیاس وسیع کمک می کند بلکه تشخیص بسیار سریع این ویروس ها را که با بیماری های انسان ارتباط دارند نیز فراهم می نماید. فناوری NGS همراه با ابزارهای بیوانفورماتیک تا حد زیادی بر مطالعات بیماریزایی و تشخیص ویروس تأثیر گذاشته است. این فناوری همچنین در شیوع کووید-۱۹ کاربرد بسیار خوبی دارد. با استفاده از فناوری NGS می توان برای اولین بار اطلاعات توالی ژنوم ویروس‌های ناشناخته را بدست آورد. این اطلاعات امکان ردیابی سریع منشا کووید-۱۹ را فراهم می کند، که برای جلوگیری از انتقال ویروس بین گونه ها، حیاتی است. در حال حاضر، دانشمندان و محققان توالی ژنوم کامل کروناویروس را درGISAID EpiFlu upload بارگذاری کرده‌اند و تعداد ژنوم ها هنوز در حال افزایش است. استفاده از فناوری NGS به یک روش کاملاً پذیرفته شده برای ردیابی شیوع و اپیدمیولوژی ژنومی در تایپ مولکولی در آزمایشگاه های میکروبیولوژی تبدیل شده است. کشف جهش های جدید به محققان این امکان را می‌دهد تا مسیرهای ناشناخته عفونت را بررسی کرده و یک پایه مولکولی مناسب برای واکسن علیه کووید-۱۹، طراحی کنند، که یک فناوری کلیدی در اپیدمیولوژی ژنومی است. علیرغم مزایای زیاد این تکنیک، از جمله شناسایی به موقع ویروس های جدید به منظور کنترل بیماری استفاده از آن به دلیل اینکه در مقایسه با سایر روش‌های تشخیصی مولکولی بسیار گران است و شامل آماده سازی پیچیده نمونه هاست را محدود می کند (۴۸،۴۷).

بررسی‌های سرولوژی و ایمونولوژی

در حالی که تشخیص RNA ویروسی مبتنی بر RT-PCR به طور گسترده ای در تشخیص کووید-۱۹ مورد استفاده قرار گرفته است، ولی نمی‌توان از آن برای بررسی پیشرفت مراحل بیماری، شناسایی گسترش عفونت و ایمنی زایی استفاده کرد. سنجش های سرولوژیک با استفاده از پروتئین های ساختاری بسیار آنتی ژنیک مانند پروتئین اسپایک (S) و نوکلئوکپسید (N)، SARS-CoV-2 انجام می‌شود. سنجش های سرولوژیک، برای شناسایی موارد مشکوک که نتیجه PCR آنان منفی می‌باشد اما یافته های رادیولوژیک نشان دهنده ابتلا به کووید-۱۹ است، شناسایی ناقل های بدون علامت و تعیین میزان آنتی بادی های خنثی کننده در پاسخ به واکسیناسیون، بسیار مهم است (۵۰،۴۹). بیشتر سنجش های سرولوژیکی موجود، آنتی بادی های IgM و IgG را تشخیص می‌دهند اگرچه آنتی بادی های IgA نیز نقش مهمی در ایمنی مخاط دارند. IgA زودتر از IgG قابل تشخیص است و در موارد غیرمعمول یا در بیمارانی که RT-PCR منفی دارند، IgA همراه با IgG ممکن است در تشخیص عفونت کووید-۱۹ نقش بسزایی داشته باشد. در بیشتر افراد، آنتی بادی های قابل اندازه گیری در طی چند روز یا چند هفته از شروع علائم ایجاد می شود. به طور معمول IgM پس از چند روز در سرم قابل تشخیص است و به دنبال آن تغییر IgG اتفاق می‌افتد. بنابراین، IgM می‌تواند شاخصی

[Downloaded from jmarmed.ir on 2026-11-04]

[DOI: 10.30491/3.4.96]

از عفونت در مراحل اولیه بیماری باشد و IgG می‌تواند شاخصی از عفونت فعلی یا قبلی باشد. IgG همچنین ممکن است برای نشان دادن وجود ایمنی پس از عفونت نیز استفاده شود. سنجش‌های سرولوژیکی می‌توانند کیفی یا نیمه کمی باشند و حساسیت و اختصاصیت های مختلفی را نسبت به آنتی بادی‌های شناسایی شده نشان دهند (۵۲،۵۱). اخیراً در یک مطالعه، عملکرد روش‌های ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay)، CLIA (Chemiluminescence immunoassay) و ECLIA (Electro-chemiluminescence immunoassay) با هم مقایسه شدند، و به طور کلی مشخص گردید که، آزمایش ECLIA در اولین روزهای ابتلا حساسیت و اختصاصیت دقیقی را نشان می‌دهد که می‌تواند یک روش سنجش معتبر در نظر گرفته شود. IgA زودتر از IgM توسط روش ELISA تشخیص داده می‌شود که نشان می‌دهد تشخیص IgA می‌تواند در تشخیص زود هنگام عفونت کووید-۱۹ از IgM مفیدتر باشد. چنان‌که، سطح IgA در طی ۲۰ روز از IgM نیز بالاتر بود (۵۴،۵۳).

- **سنجش ایمنی متصل به آنزیم**

الایزا (ELISA) یک روش بیوشیمی تحلیلی است که به عنوان استاندارد طلایی سنجش ایمنی در نظر گرفته می‌شود. این آزمایش ایمونولوژیک بسیار حساس است و برای شناسایی و کمی‌سازی موادی از جمله آنتی بادی ها، آنتی ژن ها، پروتئین ها، گلیکوپروتئین ها و هورمون ها استفاده می شود. تشخیص این محصولات با کمپلکس شدن آنتی بادی ها و آنتی ژن ها انجام می‌شود تا نتیجه قابل اندازه گیری ایجاد شود. آنتی بادی نوعی پروتئین است که توسط سیستم ایمنی بدن فرد تولید می شود. این نوع پروتئین مناطق خاصی دارد که به آنتی ژن ها متصل می شوند. آنتی ژن پروتئینی است که می تواند از برخی منابع خارجی تأمین شود و هنگامی که به آنتی بادی متصل شود، از طریق سیستم ایمنی بدن باعث ایجاد حوادث ناگهانی می شود. این تعامل در آزمایش ELISA مورد استفاده قرار می گیرد و امکان شناسایی آنتی بادی ها و آنتی ژن های پروتئینی خاص، فقط با مقدار کمی از نمونه آزمایش را فراهم می کند. آزمایش ELISA در تشخیص عفونت HIV، آزمایش های بارداری و خونریزی و سایر موارد استفاده می شود (۵۷-۵۵). تست الایزا را در حالت معمول برای ردیابی آنتی ژن یا آنتی بادی بکار می برند بدین ترتیب که یکی از این دو ماده در بستر جامد ثابت می شود و برای ردیابی دومی بکار گرفته می شود. این تکنیک بر روی یک صفحه (Plate) انجام می‌گیرد که برای تشخیص و اندازه‌گیری موادی مانند پپتیدها، پروتئین‌ها، آنتی بادی‌ها و هورمون‌ها استفاده می‌شود. در این تکنیک یک آنزیم به آنتی بادی به منظور تولید یک محصول رنگی، متصل می‌شود؛ چنین بستری، بستر کروموژنیک (Chromogenic) نامیده می‌شود. آنزیم‌هایی که معمولاً در واکنش‌های الایزا مورد استفاده قرار می‌گیرند، شامل آلکالین فسفاتاز، اسید رادیک پراکسیداز و بتاگالاکتوزیداز هستند. ترکیبات مختلفی به عنوان سوبسترا برای این روش به کار گرفته می‌شوند که از جمله این ترکیبات می‌توان به مواردی چون اوره فنیلدیامین دی هیدروکلراید (برای پراکسیداز)، پارانیتروفنیل فسفات (برای آلکالین فسفاتاز) اشاره کرد که توسط آنزیم‌های نام برده هیدرولیز می‌شوند تا محصول نهایی و رنگ تولید شود (شکل-۶) (۶۰-۵۸).

- **آزمایش ایمنی سنجی جریان جانبی**

روش ایمنی سنجی جریان جانبی (LFT: Lateral flow immunoassays) در سال‌های اخیر به دلیل قابلیت های تشخیصی کم هزینه، سریع، حساس و ویژه، بعنوان یک ابزار تشخیصی محبوب تلقی می شود. آزمایش ایمنی سنجی جریان جانبی که به عنوان روش‌های ایمونوکروماتوگرافی جریان جانبی یا آزمایشات سریع نیز شناخته می‌شوند، دستگاه های ساده ای هستند که برای تشخیص وجود ماده هدف در یک نمونه مایع بدون نیاز به تجهیزات تخصصی و پرهزینه طراحی شده اند. به عنوان مثال، تست بارداری خانگی یک LFT است که هورمون خاصی را تشخیص می دهد. این تست‌ها ساده و اقتصادی هستند و به طور کلی در حدود ۵-۳۰ دقیقه نتیجه می‌دهند. بسیاری از برنامه های آزمایشگاهی با استفاده از تجهیزات اختصاصی اضافی، حساسیت LFT های ساده را افزایش می دهند (۶۱).

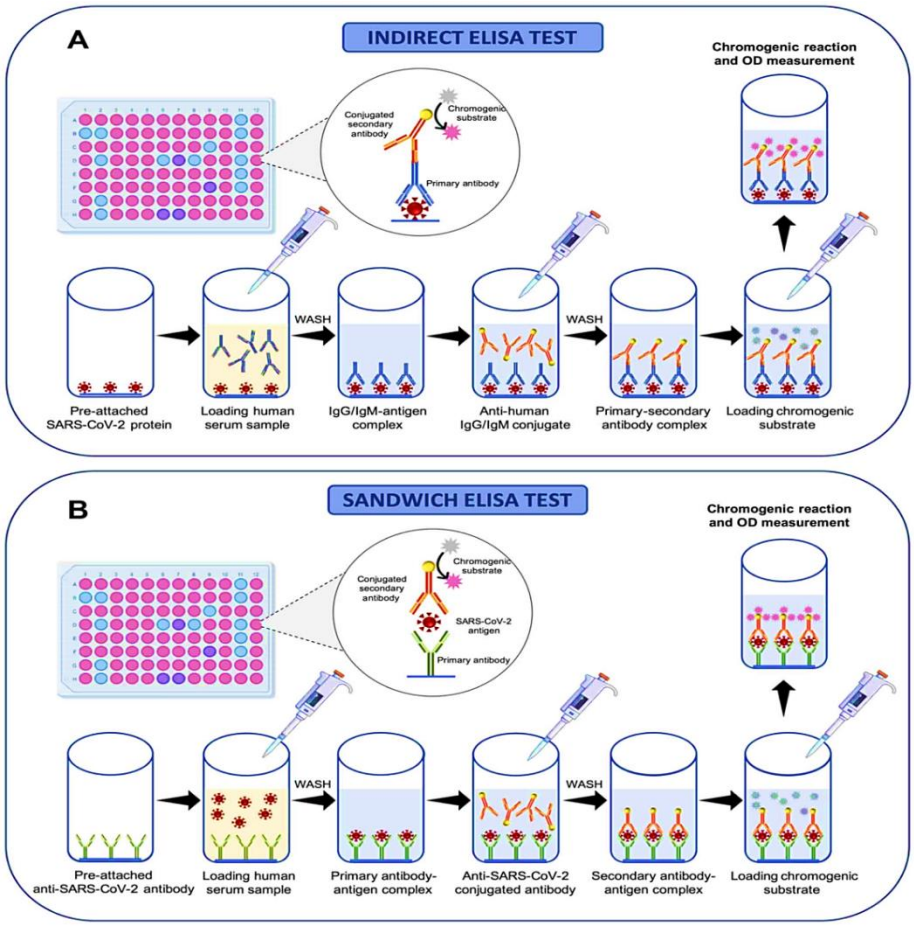
- **روش سنجش ایمنی لومینسانس**

روش سنجش ایمنی لومینسانس (Chemiluminescent Immunoassay) یک روش سنجش ایمنی است که مزایای قابل توجهی نسبت به روش های معمول تشخیصی، به ویژه در تعیین کمی آنتی بادی ها، ارائه می دهد. درحالیکه کووید-۱۹ به سرعت در حال گسترش است، تکنیک جریان جانبی می تواند نقش مهمی در تشخیص سریعتر بیماران مشکوک داشته باشد. از زمان ظهور کووید-۱۹ هزاران کیت سنجش جریان جانبی تولید شده است. نیاز به مقادیر کم نمونه (۱۰-۲۰ میکرولیتر) و نتیجه سریع (۱۵ دقیقه) این روش را منحصر به فرد کرده است. در این روش، شاخص تحلیل واکنش، یک مولکول لومینسانس است. به طور کلی، لومینسانس انتشار تابش مرئی یا تقریباً مرئی است؛ که هنگام انتقال الکترون از حالت برانگیخته به حالت پایه تولید می شود و انرژی بالقوه حاصل از اتم به صورت نور آزاد می شود. روش های سنجش ایمنی لومینسانس روش‌هایی را تشکیل می‌دهند که محدودیت‌های تشخیصی واکنش های مبتنی بر آنتی بادی را کاهش می‌دهد. این تکنیک با بهره گیری از اتصال بین آنتی ژن ویروسی و آنتی‌بادی های میزبان، مفهومی مشابه با الایزا را دنبال می کند اما در این روش از پروب های شیمیایی استفاده می شود که در نهایت منجر به تابش نور طی یک واکنش شیمیایی می‌گردد. ابزارهای CLIA

[Downloaded from jmarmed.ir on 2026-11-04]

[DOI: 10.30491/3.4.96]

به طور پیوسته برای اندازه گیری غلظت سرمی هورمون ها، داروها، ویتامین ها، نشانگرهای توموری، نشانگرهای بیماری های عفونی، نشانگرهای آسیب میوکارد و در نهایت، آنتی بادی ها مورد استفاده قرار می‌گیرند. میانگین زمانی این روش ۱ تا ۲ ساعت می‌باشد. CLIA و ELISA هر دو روش آزمایشگاهی با بازده بالا هستند (۶۳،۶۲). اخیراً، FDA برای تشخیص سریعتر کووید-۱۹، چند کیت تشخیص سریع آنتی ژن SARS-CoV-2 مانند (FIA) Sofia SARS Antigen Fluorescent Immunoassay را تأیید کرده است که از روش ایمنی سنجی جریان جانبی همراه با تکنیک پیشرفته ایمونوفلورسانس برای تشخیص کووید-۱۹ در سواب های بینی و حلق استفاده می کند و در عرض ۱۵ دقیقه، نتیجه را گزارش می دهد (شکل-۶).



شکل-۶. سنجش الایزا. A. تشخیص آنتی بادی SARS-CoV-2 به روش الایزا غیرمستقیم، B. آنتی ژن SARS-CoV-2 به روش الایزا ساندویچ (۱۲)

- **روش خنثی سازی**

در روش خنثی سازی (Neutralization assays) از ویروس زنده و کشت سلول برای تعیین اینکه آیا آنتی بادی‌های موجود در نمونه بیمار می‌توانند از عفونت ویروسی در شرایط آزمایشگاهی جلوگیری کنند، استفاده می‌شود. به منظور انجام این روش، نمونه‌های بیمار شامل خون، سرم یا پلاسما را رقیق کرده و با غلظت کم به کشت سلول اضافه می شود. اگر آنتی بادی های خنثی کننده در نمونه بیمار وجود داشته باشد، می توان سطح آنها را با تعیین آستانه ای که قادر به جلوگیری از تکثیر ویروس در کشت سلولهای آلوده هستند اندازه گیری کرد. زمان مورد نیاز برای سنجشهای خنثی سازی معمولاً ۳ تا ۵ روز است، اما پیشرفت های اخیر منجر به کاهش این میزان به ساعت شده است. این آزمایش باید در آزمایشگاه هایی که دارای گواهینامه های ایمنی زیستی تعیین شده برای کشت سلول های آلوده به SARS-CoV-2 است انجام شود. با وجود این محدودیت‌ها، تعیین آنتی‌بادی‌های خنثی‌کننده در کوتاه مدت برای کاربرد پلاسما درمانی و در دراز مدت برای تولید واکسن مهم است (۶۵،۶۴).

بحث و نتیجه‌گیری

کووید-۱۹ یک بیماری همه‌گیر بوده و از آنجا که پیشرفت عفونت ناشی از کروناویروس می‌تواند منجر به مشکلات شدید تنفسی و مرگ احتمالی شود، نیاز فوری به ارائه راهکارهای مختلف تشخیصی برای شناسایی زودرس این بیماری به شدت احساس می‌شود. با توجه به آنکه تکنیک کشت میکروارگانیسم و استفاده از

[Downloaded from jmarmed.ir on 2026-11-04]
[DOI: 10.30491/3.4.96]

میکروسکوپ برای درک عمیق کرونا ویروس جدید و ارتباط آن با سلول‌های میزبان اساسی است و روشی برای تشخیص ویروس در نظر گرفته می شود، اما در مورد پاندمی کووید-۱۹، این روش بسیار وقت گیر و هزینه بر می‌باشد. از این رو در صورت نیاز به تشخیص سریع، به ندرت روش کشت سلولی در نظر گرفته می شود، بنابراین اهمیت سایر روش ها برای تشخیص سریع حائز اهمیت است. در حال حاضر، آزمایش های مولکولی، به عنوان مرجع استاندارد تشخیص بیماری کووید-۱۹ در نظر گرفته می شود که تکنیک های بسیار حساس و خاصی هستند و می‌توانند به عنوان اولین تست در تشخیص بیماران مبتلا به کووید-۱۹ استفاده شوند. روش-های تکثیر اسید نوکلئیک با چندین آزمایش مبتنی بر RT-PCR که توسط آژانس‌های نظارتی مختلف ملی و بین المللی تأیید شده اند، روش استاندارد طلایی برای تشخیص عفونت کووید-۱۹ می-باشند. این آزمایش ها، همراه با تحقیقات بالینی و رادیولوژیکی، تشخیص صحیح و سریع عفونت کووید-۱۹ را در مقایسه با اولین روش های تشخیصی که عمدتاً توسط تجزیه و تحلیل کشت ویروسی و تعیین توالی ژنوم SARS-CoV-2 صورت می‌گرفت، به طور قابل توجهی بهبود بخشیده است.

با این حال، با وجود حساسیت و دقت بالای RT-PCR، بیماران با بار ویروسی کم اغلب به درستی تشخیص داده نمی‌شوند. علاوه بر این، روش اخیر نیاز به تجزیه و تحلیل های تأییدی، پرسنل آموزش دیده و ابزارهای گران قیمت و معرف هایی دارد که کاربرد آن را، به ویژه در کشورهای کم درآمد، محدود می کند. برای این اهداف، روش های دیگری برای غلبه بر محدودیت های RT-PCR توسعه یافته است. در میان این روش‌ها، روش‌های مبتنی بر CRISPR/Cas و روش‌های تکثیر ایزوترمال نشان دهنده راهکارهای تشخیصی کم هزینه ای هستند که می تواند برای تشخیص موثر عفونت کووید-۱۹ در کشورهای کم درآمد و متوسط استفاده شوند. علاوه بر این، روش های حساس‌تر مولکولی، از جمله ddPCR و حسگرهای زیستی، توسط سازمان های بین المللی تأیید شده اند و برای تشخیص عفونت کووید-۱۹ و همچنین برای نظارت بر بار ویروسی در بیماران بستری در بیمارستان یا افراد قرنطینه شده استفاده می‌شوند.

علاوه بر موارد ذکر شده؛ پیشرفت روش‌های الکتروشیمیایی در تشخیص عفونت‌های ویروسی مورد ارزیابی قرار گرفته است. روش های بر پایه الکتروشیمی می‌توانند برای ویروس های مختلف طراحی شوند. این روش ها کم هزینه و با تشخیص سریع هستند. با این وجود، برای استفاده در سطح آزمایشگاه های تشخیص طبی نیازمند تغییراتی هستند، به طوری که بتواند در حد روش‌های روتین همانند RT-PCR دارای دقت بالا و از لحاظ حساسیت با روش‌های مولکولی مانند RT-PCR قابل رقابت باشند.

ایمنی سنجی از دیگر ابزارهای تشخیصی است که پس از استاندارد طلایی RT-PCR در تشخیص کووید-۱۹ مفید می باشد. از روش‌های سرولوژیک ممکن است در ترکیب با آزمایشات مولکولی برای ردیابی تماس، شناسایی افراد بدون علامت که آزمایش PCR آنان منفی بوده اما IgG یا IgM مثبت هستند و کنترل شیوع بیماری با تشخیص عفونت در مراحل اولیه استفاده شود که در نتیجه سبب کاهش میزان انتقال بیماری و مرگ و میر می‌گردد. در این میان، تست های سریع آنتی ژن و آنتی بادی و آزمایش‌های سرولوژیک ایمونوآنزیمی نشان‌دهنده بیشترین تکنیک‌ها برای نظارت بر گسترش عفونت کووید-۱۹ است. علاوه بر روش‌های تشخیص مولکولی، با طراحی واکسن‌هایی علیه کووید-۱۹، تشخیص و تعیین کمیت آنتی بادی های خنثی کننده، بررسی اثرگذاری واکسن از طریق تعیین پاسخ آنتی بادی علیه ویروس و کنترل تیتر آنتی بادی برای تعیین زمان مناسب به دوز جدید واکسن، با استفاده از روش‌های سرولوژیک امکان پذیر است. توسعه سنجش های تشخیصی مطمئن برای تشخیص صحیح و مهار بیماری همه‌گیر کووید-۱۹، بسیار مهم است و در نهایت به بهبود مدیریت بیماری کمک می‌کند. علاوه بر این، با ظهور واکسن و آنتی بادی های مونوکلونال درمانی علیه کووید-۱۹، سنجش‌های سرولوژی برای تعیین ارزیابی این گزینه های درمانی جدید نقش بسیار مهمی دارند (۶۷،۶۶،۱۲). در نتیجه، درک مزایا و معایب تکنیک های مختلف تشخیص ویروس و انجام صحیح آنها می‌تواند از شیوع بیشتر SARS-CoV-2 و خستگی کارکنان پزشکی جلوگیری کرده و سبب کنترل مؤثر وضعیت همه گیر فعلی شود، که در نهایت به ارتقا بهداشت و ایمنی عمومی می‌انجامد و از پیامدهای مخرب بیماری نیز جلوگیری می کند.

تشکر و قدردانی: نویسندگان مقاله بر خود لازم می دانند از زحمات همه عزیزانی که در ارسال و تدارک اطلاعات و تدوین و نگارش این مقاله کمک‌های شایانی نموده اند تقدیر و تشکر نمایند.

نقش نویسندگان: همه نویسندگان در نگارش اولیه مقاله یا بازنگری آن سهیم بودند و همه با تایید نهایی مقاله حاضر، مسئولیت دقت و صحت مطالب مندرج در آن را می پذیرند.

تضاد منافع: نویسندگان تصریح می کنند که هیچ گونه تضاد منافعی در مطالعه حاضر وجود ندارد.

منابع

[Downloaded from jmarmed.ir on 2026-11-04]

[DOI: 10.30491/3.4.96]

1. Perlman S. Another Decade, another Coronavirus. N Engl J Med. 2020; 382(8): 760-762. doi:10.1056/NEJMe2001126
2. Kumar S. COVID-19: A Drug Repurposing and Biomarker Identification by Using Comprehensive Gene-Disease Associations through Protein-Protein Interaction Network Analysis. Preprints. 2020; 2020030440. doi:10.20944/preprints202003.0440.v1
3. Zhou P, Yang XL, Wang XG, Hu B, Zhang L, Zhang W, et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. Nature. 2020; 579(7798): 270-273. doi:10.1038/s41586-020-2012-7
4. Fadaka AO, Sibuyi NRS, Adewale OB, Bakare OO, Akanbi MO, Klein A, et al. Understanding the epidemiology, pathophysiology, diagnosis and management of SARS-CoV-2. J Int Med Res. 2020; 48(8): 300060520949077. doi:10.1177/0300060520949077
5. Campos CO, Bernuci MP, Vireque AA, Campos JR, Silva-de-Sá MF, Jamur MC, et al. Preventing Microbial Contamination during Long-Term in Vitro Culture of Human Granulosa-Lutein Cells: An Ultrastructural Analysis. ISRN Obstet Gynecol. 2012; 152781. doi:10.5402/2012/152781
6. Sanyaolu A, Okorie C, Marinkovic A, Ayodele O, Abbasi AF, Prakash S, et al. Navigating the diagnostics of COVID 19. SN Compr Clin Med. 2020; 25. doi:10.1007/s42399-020-00408-8
7. Vandenberg O, Martiny D, Rochas O, van Belkum A, Kozlakidis Z. Considerations for diagnostic COVID 19 tests. Nat Rev Microbiol. 2021; 19(3): 171-183. doi:10.1038/s41579-020-00461-z
8.Carter LJ, Garner LV, Smoot JW, Li Y, Zhou Q, Saveson CJ, et al. Assay Techniques and Test Development for COVID-19 Diagnosis. ACS Cent Sci. 2020; 6(5): 591-605. doi:10.1021/acscentsci.0c00501
9. Wang Y, Kang H, Liu X, Tong Z. Combination of RT-qPCR Testing and Clinical Features for Diagnosis of COVID-19 facilitates management of SARS-CoV-2 Outbreak. J Med Virol. 2020; 92(6): 538-539. doi:10.1002/jmv.25721
10. Mathuria JP, Yadav R, Rajkumar. Laboratory diagnosis of SARS-CoV-2. A review of current methods. J Infect Public Health. 2020; 13(7): 901-905. doi:10.1016/j.jiph.2020.06.005
11. La Marca A, Capuzzo M, Paglia T, Roli L, Trenti T, Nelson SM. Testing for SARS-CoV-2 (COVID-19. a systematic review and clinical guide to molecular and serological in-vitro diagnostic assays. Reprod Biomed Online. 2020; 41(3): 483-499. doi:10.1016/j.rbmo.2020.06.001
12. Oishee MJ, Ali T, Jahan N, Khandker SS, Haq MA, Khondoker MU. COVID-19 Pandemic: Review of Contemporary and Forthcoming Detection Tools. Infect Drug Resist. 2021; 14: 1049-1082. doi:10.2147/IDR.S289629
13. Calderaro A, Arcangeletti MC, De Conto F, Buttrini M, Montagna P, Montecchini S, et al. SARS-CoV-2 infection diagnosed only by cell culture isolation before the local outbreak in an Italian seven-week-old suckling baby. International Journal of Infectious Diseases. 2020; 96:387-9. doi:10.1016/j.ijid.2020.05.035
14. Zhu N, Wang W, Liu Z, Liang C, Wang W, Ye F, et al. Morphogenesis and cytopathic effect of SARS CoV 2 infection in human airway epithelial cells. Nat Commun. 2020; 11: 3910. doi:10.1038/s41467-020-17796-z
15. Li B, Li X, Wang Y, Han Y, Wang Y, Wang C, et al. Diagnostic value and key features of computed tomography in Coronavirus Disease 2019. Emerging microbes & infections. 2020; 9(1):787-93. doi:10.1080/22221751.2020.1750307
16. Vancheri SG, Savietto G, Ballati F, et al. Radiographic findings in 240 patients with COVID-19 pneumonia: time-dependence after the onset of symptoms. Eur Radiol. 2020; 30(11): 6161-6169. doi:10.1007/s00330-020-06967-7
16. Vancheri SG, Savietto G, Ballati F, Maggi A, Canino C, Bortolotto C, et al. Radiographic findings in 240 patients with COVID-19 pneumonia: time-dependence after the onset of symptoms. European radiology. 2020; 30:6161-9.
17. Xia J, Tong J, Liu M, Shen Y, Guo D. Evaluation of coronavirus in tears and conjunctival secretions of patients with SARS-CoV-2 infection. J Med Virol. 2020; 92(6): 589-594. doi:10.1002/jmv.25725
18. Carter LJ, Garner LV, Smoot JW, Li Y, Zhou Q, Saveson CJ, et al. Assay Techniques and Test Development for COVID-19 Diagnosis. ACS Cent Sci. 2020; 6(5): 591-605. doi:10.1021/acscentsci.0c00501
19. Hadjinicolaou AV, Farcas GA, Demetriou VL, Mazzulli T, Poutanen SM, Willey BM, et al. Development of a molecularbeacon- based multi-allelic real-time RT-PCR assay for the detection of human coronavirus causing severe acute respiratory syndrome (SARS-CoV): a general methodology for detecting rapidly mutating viruses. Arch Virol. 2011; 156(4):671-80. doi:10.1007/s00705-010-0906-7
20. Rutgers University; New Rutgers Saliva Test for Coronavirus Gets FDA Approval: Emergency Use Authorization Granted for New Biomaterial Collection Approach. Rutgers Today. 2020.
21. U.S. Food & Drug Administration. Accelerated emergency use authorization (EUA) summary SARS-CoV-2 ASSAY (Rutgers Clinical Genomics Laboratory). 2020.
22. Van Guilder HD, Vrana, KE, Freeman WM. Twenty-five years of quantitative PCR for gene expression analysis. BioTechniques. 2008; 44 (5), 619-626. doi:10.2144/000112776
23. Wong ML, Medrano JF. Real-time PCR for mRNA quantitation. BioTechniques. 2005; 39(1), 75-85. doi:10.2144/05391RV01
24. Chu DK, Pan Y, Cheng SM, Hui KP, Krishnan P, Liu Y, et al. Molecular diagnosis of a novel coronavirus (2019-nCoV) causing an outbreak of pneumonia. Clinical chemistry. 2020;66(4):549-55. doi:10.1093/clinchem/hvaa029
25. COVID-19 test kits included on the ARTG for legal supply in Australia. Australian Government, Department of Health, Therapeutic Goods Administration, Newsroom. 2020.

[Downloaded from jmarmed.ir on 2026-11-04]

[DOI: 10.30491/3.4.96]

26. Park M, Won J, Choi BY, Lee CJ. Optimization of primer sets and detection protocols for SARS-CoV2 of coronavirus disease 2019 (COVID-19) using PCR and real-time PCR. Exp Mol Med. 2020; 52(6): 963977. doi:10.1038/s12276-020-0452-7
27. Corman VM, Landt O, Kaiser M, et al. Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. Euro Surveill. 2020; 25(3): 2000045. doi:10.2807/1560-7917.ES.2020.25.3.2000045
27. Corman VM, Landt O, Kaiser M, Molenkamp R, Meijer A, Chu DK. Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. Eurosurveillance; 25(3):2000045.
28. Notomi T, Okayama H, Masubuchi H, Yonekawa T, Watanabe K, Amino N, et al. Loop-mediated isothermal amplification of DNA. Nucleic Acids Res. 2000; 28(12): E63-7. doi:10.1093/nar/28.12.e63
29. Thai HTC, Le MQ, Vuong CD, Parida M, Minekawa H, Notomi T, et al. Development and Evaluation of a novel loop-mediated isothermal amplification method for rapid detection of Severe Acute Respiratory Syndrome coronavirus. J Clin Microbiol. 2004; 42(5): 1956-1961. doi:10.1128/JCM.42.5.1956-1961.2004
30. Yu L, Wu S, Hao X, Li X, Liu X, Ye S, et al. Rapid colorimetric detection of COVID-19 coronavirus using a reverse transcriptional loop-mediated isothermal amplification (RT-LAMP) diagnostic plat-form: iLACO. Clin Chem. 2020; 66 (7): 975-977. doi:10.1093/clinchem/hvaa102
31. Hologic's Molecular Test for the Novel Coronavirus, SARSCoV-2, Receives FDA Emergency Use Authorization. CoronavirusUpdate. Hologic, Inc. 2020.
32. Hou T, Zeng W, Yang M, Chen W, Ren L, Ai J, et al. Development and Evaluation of A CRISPR-based Diagnostic for 2019-novel Coronavirus. PLoS Pathog. 2020; 16(8): e1008705. doi:10.1371/journal.ppat.1008705
33. Zhang F, Abudayyeh OO, Gootenberg JS. A protocol for detection of COVID-19 using CRISPR diagnostics. Broad Institute of MIT and Harvard. 2020.
34. West R. Serology-based tests for COVID-19. Johns Hopkins Center for Health Security. 2020.
35. Pryor J. 3 Questions: How COVID-19 tests work and why they're in short supply. MIT News: On Campus and around the World, Massachusetts Institute of Technology. 2020.
36. Carter LJ, Garner LV, Smoot JW, Li Y, Zhou Q, Saveson CJ. Assay Techniques and Test Development for COVID-19 Diagnosis. ACS Cent Sci. 2020; 6(5): 591-605. doi:10.1021/acscentsci.0c00501
37. Wang B, Potter S.J, Lin Y, Cunningham A.L, Dwyer D.E, Su Y, et al. Rapid and sensitive detection of severe acute respiratory syndrome coronavirus by rolling circle amplification. J Clin Microbiol. 2005; 43(5): 2339-2344. doi:10.1128/JCM.43.5.2339-2344.2005
38. Chen Q, Li J, Deng Z, Xiong W, Wang Q, Hu Y.Q. Comprehensive detection and identification of seven animal coronaviruses and human respiratory coronavirus 229E with a microarray hybridization assay. Intervirology. 2010; 53(2): 95-104. doi:10.1159/000264199
39. Guo X, Geng P, Wang Q, Cao B, Liu B. Development of a single nucleotide polymorphism DNA microarray for the detection and genotyping of the SARS coronavirus. J. Microbiol. Biotechnol. 2014; 24(10): 1445-1454. doi:10.4014/jmb.1404.04024
40.De Souza Luna LK, Heiser V, Regamey N, Panning M, Drexler JF, Mulangu S, et al. Generic detection of coronaviruses and differentiation at the prototype strain level by reverse-transcription-PCR and nonfluorescent low-density microarray. J Clin Microbiol. 2007; 45(3): 1049-1052. doi:10.1128/JCM.02426-06
41.Habibzadeh P, Mofatteh M, Silawi M, Ghavami S. Molecular diagnostic assays for COVID-19: an overview. Crit Rev Clin Lab Sci. 2021: 1-20. doi:10.1080/10408363.2021.1884640
42. Moore SC, Penrice-Randal R, Alruwaili M, Dong X, Pullan ST, Carter DP, et al. Amplicon based MinION sequencing of SARS-CoV-2 and metagenomics characterisation of nasopharyngeal swabs from patients with COVID-19. medRxiv. 2020; 03.05. 20032011.
43. Comprehensive Workflow for Detecting Coronavirus Using Illumina Benchtop Systems. A Shotgun Metagenomics Sequencing Workflow for Effective Detection and Characterization of Coronavirus Strains. Infectious Disease Surveillance. 1270-2020-002-A4.
44. Saylan Y, Erdem Ö, Ünal S, Denizli A. An Alternative Medical Diagnosis Method: Biosensors for Virus Detection. Biosensors (Basel). 2019; 9(2): 65. doi:10.3390/bios9020065
45. Zhuang J, Yin J, Lv S, Wang B, Mu Y. Advanced "lab-on-a-chip" to detect viruses - Current challenges and future perspectives. Bioelectron. 2020; 163:112291. doi:10.1016/j.bios.2020.112291
46. Maddali H, Miles CE, Kohn J, O'Carroll DM. Optical Biosensors for Virus Detection: Prospects for SARS-CoV-2/COVID-19. Chembiochem: An European Journal of Chemical Biology. 2021; 22(7): 1176-1189. doi:10.1002/cbic.202000744
47. Xiaomin C, Yutong K, Jing L, Kun P, Xin X, Jinyu W, et al. Next-Generation Sequencing Reveals the Progression of COVID-19. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology. 2021; 11: 632490. doi:10.3389/fcimb.2021.632490
48. Chiara M, D'Erchia AM, Gissi C, Manzari C, Parisi A, Resta N, et al. Next generation sequencing of SARS-CoV-2 genomes: challenges, applications and opportunities. Brief Bioinform. 2021; 22(2): 616-630. doi:10.1093/bib/bbaa297
49.Xiang F, Wang X, He X, Peng Z, Yang B, Zhang J, et al. Antibody detection and dynamic characteristics in patients with coronavirus disease 2019. Clin Infect Dis. 2020; 71(8): 1930-4. doi:10.1093/cid/ciaa461
50.Wolfel R, Corman VM, Guggemos W, Seilmaier M, Zange s, Muller MA, et al. Virological assessment of hospitalized patients with COVID- 2019. Nature.

[Downloaded from jmarmed.ir on 2026-11-04]

[DOI: 10.30491/3.4.96]

2020; 581(7809): 465-9. doi:10.1038/s41586-020-2196-x
51. Deeks JJ, Dinnes J, Takwoingi Y, Davenport C, Spijker R, Taylor-Phillips S, et al. Antibody tests for identification of current and past infection with SARS-CoV-2. Cochrane Database Syst Rev. 2020; 6(6): CD013652. doi:10.1002/14651858.CD013652
52. Jääskeläinen AJ, Kekäläinen E, Kallio-Kokko H, Mannonen L, Kortela E, Vapalahti O, et al. Evaluation of commercial and automated SARS-CoV-2 IgG and IgA ELISAs using coronavirus disease (COVID-19) patient samples. Euro Surveill. 2020; 25(18): 2000603. doi:10.2807/1560-7917.ES.2020.25.18.2000603
53. Pieri M, Ciotti M, Carlozzi N, Frassanito ML, Meloni A, Cistera A, et al. SARS-CoV-2 infection serology validation of different methods: usefulness of IgA in the early phase of infection. Clin Chim Acta. 2020; 511: 28-32. doi:10.1016/j.cca.2020.09.033
54. Padoan A, Cosma C, Sciacovelli L, Faggian D, Plebani M. Analytical performances of a chemiluminescence immunoassay for SARSCoV-2 IgM/IgG and antibody kinetics. Clin Chem Lab Med. 2020; 58(7): 1081-8. doi:10.1515/cclm-2020-0443
55. Engvall E. The ELISA enzyme-linked immunosorbent assay. Clin Chem. 2010; 56: 319-20. doi:10.1373/clinchem.2009.127803
56. Alandijany TA, El-Kafrawy SA, Tolah AM, Sohrab SS, Faizo AA, Hassan AM, et al. Development and Optimization of In-house ELISA for Detection of Human IgG Antibody to SARS-CoV-2 Full Length Spike Protein. Pathogens. 2020; 9(10): 803. doi:10.3390/pathogens9100803
57. Larsen SE, Berube BJ, Pecor T, Cross E, Brown BP, Williams B, et al. Qualification of ELISA and neutralization methodologies to measure SARS-CoV-2 humoral immunity using human clinical samples. bioRxiv. 2021; 07.02.450915. doi:10.1101/2021.07.02.450915
58. Yalow RS, Berson SA. Immunoassay of endogenous plasma insulin in man. J ClinInvest. 1960; 39: 115775. doi:10.1172/JCI104130
59. Coons AH, Creech HJ, Jones RN. Immunological properties of an anti-body containing of fluorescent group. Pros Soc Exp Biol Med. 1941; 47:200-2. doi:10.3181/00379727-47-13084P
60. Aydin S. A short history, principles, and types of ELISA, and our laboratory experience with peptide/protein analyses using ELISA. Peptides. 2015. doi:10.1016/j.peptides.2015.04.012
61. Scohy A, Anantharajah A, Bodeus M, Kabamba-Mukadi B, Verroken A, Rodriguez-Villalobos H. Low performance of rapid antigen detection test as frontline testing for COVID- 19 diagnosis. J Clin Virol. 2020; 129: 104455. doi:10.1016/j.jcv.2020.104455
62. Cai X, Chen J, Hu J, Long Q, Deng H, Fan K, et al. A Peptide-based Magnetic Chemiluminescence Enzyme Immunoassay for Serological Diagnosis of Corona Virus Disease 2019 (COVID-19) medRxiv. 2020; 2020.02.22.20026617. doi:10.1101/2020.02.22.20026617
63. Infantino M, Grossi V, Lari B, Bambi R, Perri A, Manneschi M, et al. Diagnostic accuracy of an automated chemiluminescent immunoassay for anti-SARS-CoV-2 IgM and IgG antibodies: An Italian experience. J Med Virol. 2020; 92(9): 1671-1675. doi:10.1002/jmv.25932
64. Postnikova EN, Pettitt J, Van Ryn CJ, Holbrook MR, Bollinger L, Yu S, et al. Scalable, semi-automated fluorescence reduction neutralization assay for qualitative assessment of Ebola virus-neutralizing antibodies in human clinical samples. PLoS One. 2019; 14(8): e0221407. doi:10.1371/journal.pone.0221407
65. Whiteman MC, Bogardus L, Giacone DG, Rubinstein LJ, Antonello JM, Sun D, et al. Virus Reduction Neutralization Test: A Single-Cell Imaging High-Throughput Virus Neutralization Assay for Dengue. Am J Trop Med Hyg. 2018; 99(6): 1430-1439. doi:10.4269/ajtmh.17-0948
66. Falzone L, Gattuso G, Tsatsakis A. Current and innovative methods for the diagnosis of COVID 19 infection (Review). Int J Mol Med. 2021; 47(6): 100. doi:10.3892/ijmm.2021.4933
67. Zorriehzahra M J, Dadar M, Ziarati M, Seidgar M, Hassantabar F, Rashidi monfared S, et al. A Perspective on the Origin of COVID-19 and Its Epidemic Situation in Iran and the World. J Mar Med. 2020; 2(1): 41-52. doi:10.30491/2.1.2

[Downloaded from jmarmed.ir on 2026-11-04]

[DOI: 10.30491/3.4.96]