بررسی مروری سامانه‌های تشخیص سریع ویروس SARS-CoV-2 و دسته‌بندی فناورانه آنها

زینب باقری[1]، ابوالفضل میرزاپوررامکی[2]*

۱- استادیار،گروه زیست‌شناسی سلولی و مولکولی، دانشکده علوم و فناوری زیستی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران

۲- استادیار، گروه نانوبیوتکنولوژی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، صندوق پستی ۱۷۵- ۱۴۱۱۵

* نویسنده مسئول: a.mirzapour@modares.ac.ir

دریافت:۱۴۰۰/۰۷/٦ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۰/۱۹

چکیده

روش‌های تشخیص سریع ابزارهای آزمایشگاهی هستند که در نزدیکی محل مراقبت و مورد مشکوک می‌توان از آنها استفاده کرد. در یک روش تشخیص سریع، مراحل آماده‌سازی نمونه تا گرفتن نتیجه قابل درک باید کمترین زمان ممکن باشد و اپراتورهای غیرماهر بتوانند آن را اجرا و نتیجه به‌دست آمده را درک کنند. برای اجراشدن چنین روندی بهتر است تمام مراحل آماده‌سازی نمونه، تشخیص و دستیابی به سیگنال قابل درک در یک دستگاه واحد انجام شود. این سیستم‌های تجزیه‌وتحلیل می‌توانند شامل تراشه‌های میکروسیال، حسگرهای مبتنی بر کاغذ و یا حتی واکنش‌های تک لوله باشند. در پاندمی کرونا فناوری‌های متنوعی برای تشخیص سریع ویروس SARS-CoV-2 معرفی شد که براساس آنها محصولات مختلفی به‌صورت تجاری تولید شدند. با توجه به حساسیت تشخیص در مراحل مختلف بیماری تنها تعداد کمی از فناوری‌های مطرح توانستند به‌صورت عملی به کار گرفته شوند. در این مقاله مروری این محصولات از نظر نوع فناوری دسته‌بندی و بررسی شده‌اند. همچنین این فناوری‌ها از نظر مؤلفه‌های مهم نظیر حساسیت، دقت، قیمت و سرعت انجام فرایند در مدیریت تشخیص و کنترل بیماری کرونا با یکدیگر مقایسه شده‌اند و کاربرد هر فناوری توضیح داده شده است. درنهایت برترین فناوری که می‌تواند در کنترل همه‌گیری کووید ۱۹ نقش تعیین‌کننده داشته باشد، معرفی شده است.

کلیدواژگان: تشخیص سریع، کووید ۱۹، دسته‌بندی فناورانه.

۱- مقدمه

ویروس SARS-CoV-2 از دسته کرونا ویروس‌هاست که برای اولین بار در فوریه ۲۰۱۹ در چین مشاهده شد و به‌سرعت به‌صورت پاندمی در بسیاری از کشورهای دنیا شیوع پیدا کرد. در ۱۱ مارس ۲۰۲۰ سازمان بهداشت جهانی (WHO) شیوع بیماری کرونا را به‌صورت یک اپیدمی اعلام کرد. دکتر تدروس آدانوم[1] رئیس سازمان

1 Tedros Adhanom Ghebreyesus

بهداشت جهانی علت اپیدمی ناشی از کرونا را میزان نگران‌کننده انفعال ایمنی در انسان‌ها اعلام کرد. ایالت متحده آمریکا و انگلیس از مهم‌ترین کشورهایی هستند که اقدام‌های لازم را برای کنترل ویروس به تأخیر انداختند. تا ۳۱ مارس ۲۰۲۰ این ویروس بیش از ۸۱۹۰۰۰ نفر را در سرتاسر جهان آلوده کرده بود و تعداد کشته‌ها بیش از ۳۹۷۰۰ نفر بود [۱؛ ۲].

لازم به توجه است که سازمان بهداشت جهانی ضمن تأکید بر انتشار سریع ویروس کرونا در کل جهان، شناسایی دقیق و کارامد ویروس کرونا را برای جداسازی هرچه سریع‌تر افراد آلوده ضروری و حیاتی اعلام کرده است و این موضوع را اصلی‌ترین اقدام در جلوگیری از انتشار و گسترش وسیع این ویروس مشخص نموده است. در حال حاضر، بیشترین آزمایش‌های تشخیصی این ویروس در انسان از راه شناسایی قطعه‌های اختصاصی ژنوم آن (RNA) با روش «واکنش زنجیره‌ای پلیمراز» (PCR) از نمونه‌هایی است که از بینی و گلوی افراد به دست آمده است [۳].

اما متأسفانه روش پی سی آر محدودیت‌های بسیار زیادی دارد و همچنین امکان تشخیص قطعی ابتلا به بیماری در نمونه‌های انسانی را با دشواری و خطا مواجه می‌کند. همچنین با توجه به فراوانی افراد مبتلا روش‌های آزمایشگاهی مبتنی بر پی سی آر نیازمند مراکز مجهز و گروه تخصصی بوده و امکان بررسی افراد به‌صورت وسیع را با مشکل مواجه می‌کند. این در حالی است که بسیاری از کشورها با محدودیت‌های فراوانی در زمینه تجهیزات آزمایشگاهی تخصصی و محدودیت‌های زمانی مواجه هستند [٤].

استفاده از روش‌های تشخیص سریع بیماری کووید ۱۹ که به‌طور معمول از نظر هزینه‌ای نیز از روش‌های جاری آزمایشگاهی کمتر است، کمک می‌کند که روند شناسایی و ردیابی افراد مبتلا و همچنین روند درمان بیماری بهتر کنترل شود. همچنین برای افراد شاغل در مراکز بهداشتی و بیمارستان‌ها نقش حیاتی خواهد داشت [٥]. لازم به ذکر است تاکنون تعداد بسیار محدودی از محصولات تشخیصی کووید ۱۹ برای مصرف در منزل ارائه شده‌اند و بیشتر روش‌ها باید در مراکز تخصصی و بهداشتی استفاده شود. به دلیل آنکه در بسیاری از روش‌های سریع، یک مرحله از فرایند تشخیص مثلاً خوانش نوارهای کاغذی نیازمند استفاده از دستگاه تخصصی است، استفاده از این محصولات در مکان‌های عمومی امکان‌پذیر نیست.

به‌طور کلی از نظر نوع نمونه تشخیصی، روش‌هایی که RNAژنومی و آنتی‌ژن را تشخیص می‌دهند چون به‌صورت مستقیم عفونت فعال را اندازه‌گیری می‌کنند، در اولویت اول فناوری تشخیصی قرار گرفته و اهمیت فراوانی دارند [٦]. در روش‌های تشخیص آنتی‌ژن چون فرایند ساده‌تر و از نظر زمانی کوتاه‌تر است، می‌تواند نقش مهمی در غربالگری سریع داشته باشد. لازم به ذکر است از آن‌جایی‌که روش‌های تشخیص سریع آنتی‌ژن به‌صورت کیفی عمل می‌کنند، دقت استفاده از این روش‌ها کم است و مانند روش Real Time-PCR نمی‌توانند مقدار دقیق ویروس را نشان دهند. از طرفی بسیاری از شرکت‌های ارائه دهنده روش‌های تشخیص سریع بر مبنای آنتی‌ژن، برای افزایش حساسیت، خوانش استریپ را با روش ایمنوفلورسانس انجام می‌دهند تا با بهره‌گیری از سیگنال حساس فلورسانس تشخیص به‌صورت دقیق‌تر انجام شود. به همین دلیل روش‌های تشخیص سریع آنتی‌ژن که بدون دستگاه خوانش عمل می‌کنند، حداکثر حساسیت آنها به‌صورت کلی ٦۰ درصد گزارش شده است [۷]. پارامتر مهم دیگری که باید به آن توجه کرد، این است که با توجه به وابسته‌بودن بسیاری از روش‌های تشخیص به یک دستگاه خاص، آنچه که استفاده از یک روش را سودآور می‌کند، میزان توانمندی بالای آن است؛ یعنی در یک روز با استفاده از یک دستگاه چند نمونه قابل بررسی است.

همچنین تعداد مراحل کم نیز در افزایش سرعت و دقت روش تأثیرگذار خواهد بود، برای نمونه در بسیاری از محصولات سریع، نمونه بیولوژیک خون و بزاق بدون آماده‌سازی استفاده‌شده و درواقع مراحل لیز سلول و استخراج در فرایند تشخیصی ادغام می‌شود.

تعداد شرکت‌هایی که از زمان شیوع ویروس کرونا برای تشخیص آن محصول ارائه داده‌اند، بسیار زیاد است. به همین دلیل در این مطالعه به‌منظور انتخاب دقیق محصولات ارائه‌شده از داده‌های سامانه‌های استاندارد جهانی استفاده شده است. سازمان‌های مهم جهانی روش‌های مختلفی را در این زمینه اجرا کرده‌اند که در ادامه به سه مورد از آنها اشاره می‌شود.

در راستای تنظیم و مدیریت محصولات تشخیصی، سازمان FDA در مرحله اول مجوز استفاده اضطراری EUAرا برای محصولات مختلف در ارتباط با تشخیص، درمان و واکسن ویروس کرونا صادر کرد که فهرست این محصولات در تارنمای این مرکز موجود است [۸]. لازم به ذکر است که این مجوز به معنای تأیید محصول به معنای قانونی نیست، اما درعوض به FDA اجازه می‌دهد تا مجوز در دسترس‌بودن یک محصول غیرمجاز یا استفاده غیرمجاز از یک محصول تأییدشده را در زمان اعلام وضعیت اضطراری تغییر دهد. یک مرکز همکار با سازمان جهانی بهداشت به نام FIND نیز که بر روش‌های تشخیص بیماری‌ها متمرکز است و فعالیت‌هایی نظیر سیاست‌گذاری، تدوین استانداردها و ارزیابی محصولات را انجام می‌دهد، از ابتدای شیوع بیماری کووید ۱۹ فراخوانی برای دریافت محصولات مرتبط با شناسایی ویروس SARS-CoV-2 اعلام نمود [۹]. به‌این‌ترتیب همزمان با پیشرفت بیماری کرونا شرکت‌های مختلف در سراسر دنیا نیز محصولات خود را در این مرکز ثبت کردند که در این حالت مسیر برای انتخاب روش‌های کارامد در کنترل پاندمی آسان شد. همچنین سازمان NIH برای سرعت‌بخشیدن به نوآوری در توسعه، تجاری‌سازی و اجرای فناوری در راستای تشخیص بیماری کووید ۱۹، برنامه تشویقی با عنوان RADx[1] را اعلام کرد تا محصولات تشخیصی دقیق با کاربری سریع و آسان شناسایی شوند [۱۰]. یکی از نکته‌هایی که در ارتباط با محصولات شرکت‌های مختلف باید در نظر داشت، این است که بسیاری از محصولاتی که سرمایه‌گذاری روی آنها انجام شده است، در شرایط کنونی از نظر هزینه سودآور نیستند [۱۱]. اما به نظر می‌رسد سازمان‌های مطرحی نظیر NIH از بستر شیوع بیماری کووید ۱۹ برای بالغ‌شدن این فناوری‌ها استفاده کرده‌اند تا موانع پیشرفت و تجاری‌سازی یک فناوری که در شرایط عادی قابل رقابت با روش‌های دیگر نبوده‌اند، برطرف شود، نظیر فناوری‌هایی که از CRISPR و تراشه‌های میکروسیالی برای تشخیص ویروس SARS-CoV-2استفاده می‌کنند [٦].

در این راستا توجه به سیاست‌گذاری‌های انجام‌شده در دنیا، برای انتخاب سیاست‌گذاری ملی در این حوزه اهمیت فراوانی خواهد داشت. با توجه به تنوع روش‌های تشخیص سریع و تعدد شرکت‌های عرضه‌کننده محصولات تجاری، در این مقاله مروری بررسی جامعی در ارتباط با انواع روش‌های تشخیص سریع ویروس SARS-CoV-2 انجام شده است.

۲- مروری بر روش‌های تشخیص سریع کووید ۱۹ و دسته‌بندی آنها

۲-۱ روش تکثیر هم‌دما

اگرچه RT-PCR استاندارد طلایی برای تشخیص مولکولی ویروس SARS-CoV-2 است، اما چون به دستگاه ترمال سایکلر[2] احتیاج دارد، برای کاربردهای تست سریع روش ایدئالی نیست. روش‌های جایگزین تکثیر DNA مانند

1 Rapid Acceleration of Diagnostics (RADx)
2 Thermal cycler

تکثیر ایزوترمال حلقه‌ای[1] (LAMP)، تکثیر پلیمراز وابسته به ریکمبیناز[2](RPA) ، تکثیر از طریق دایره چرخان[3] (RCA)، واکنش تکثیر نمایی[4] (EXPAR) و تکثیر از راه جابه‌جایی رشته نمایی[5](E-SDA) هرکدام می‌توانند فقط در یک دما تکثیر DNA را انجام داده و بنابراین با استفاده از این روش‌ها به دستگاه‌های ترمال سایکلر احتیاج نیست. روش‌های LAMP و RPA حساسیت مشابهی را که با PCR برای تشخیص تعداد کپی کم اسیدهای نوکلئیک قابل دستیابی است، فراهم می‌کنند درحالی‌که دیگر روش‌های بیان‌شده حساسیت پایینی دارند. لازم به ذکر است روش‌های LAMP و RPA از RT-PCR سریع‌تر انجام می‌شود [٤].

LAMP معمولاً در دمای ٦٠–٦٥ درجه سانتیگراد کار می‌کند و در این دما بدون نیاز به ترمال سایکلر تکثیر نمایی اسید نوکلئیک انجام می‌شود. LAMP از سه جفت پرایمر استفاده می‌کند: دو پرایمر داخلی، دو پرایمر خارجی و دو پرایمر حلقه‌ای. پرایمرهای داخلی و خارجی به هدف متصل می‌شوند و بعد از تکثیر آنها یک ساختار دمبل تشکیل می‌دهند که از دو حلقه ساقه در هر دو انتها تشکیل شده است. پرایمرهای حلقه و پرایمرهای داخلی برای شروع تکثیر DNA به ناحیه حلقه دمبل متصل می‌شوند. DNA تازه تشکیل‌شده دورشته‌ای است و سبب فعالیت جابه‌جایی بین رشته‌ای پلیمراز شده که سبب می‌شود از راه بازکردن DNA دورشته‌ای چندین بار تکثیر انجام شود [۱۲].

چندین نوع RT-LAMP برای هدف قراردادن مناطق مختلف ژنی SARS-CoV-2، با استفاده از روش‌های طیف‌سنجی فلورسانس یا رنگ‌سنجی ایجاد شده است. یک راهبرد برای تولید سیگنال فلورسانس استفاده از کلسئین است. فلورسانس کلسئین در آغاز واکنش (که کلسئین به منگنز اتصال دارد) خاموش است. پیرو فسفات‌های تولیدشده از واکنش‌های تکثیر DNA منگنز را جدا کرده و شدت انتشار فلورسانس آن را افزایش می‌دهد. یک سازوکار دیگر که در روش‌های سریع LAMP استفاده می‌شود، استفاده از رنگ‌هایی است که به تغییرات pH حساس هستند. از آن‌جایی‌که انجام واکنش LAMP منجر به کاهش pH می‌شود، از شناساگرهای رنگ‌سنجی و یا فلورسانسی pH برای ارزیابی انجام‌شدن واکنش LAMP می‌توان بهره برد. مهم‌ترین مشکل در ارتباط با روش‌های مطرح، یعنی کلسئین و تغییرات pH عدم کمی‌سازی دقیق و همچنین افزایش احتمال نمونه‌های مثبت کاذب است، زیرا در روش‌های سنجش بالا فقط انجام‌شدن واکنش نشان داده می‌شود و در شرایطی نظیر تشکیل پرایمر دایمر و تکثیر از مناطق غیرهدف نمونه مثبت کاذب خواهیم داشت [۱۳]. شرکت Abbott اولین شرکتی بود که محصول تست سریع کرونا بر پایه LAMP را عرضه کرد (**شکل ۱**). این محصول قادر است در زمان ۵ دقیقه نتایج مثبت و در ۱۳ دقیقه نتایج منفی را اعلام کند. از این دستگاه در مراکز اورژانس، مطب پزشکان و و کلینیک‌های مراقبت فوری می‌توان استفاده کرد.

1 loop-mediated isothermal amplification (LAMP)
2 Recombinase polymerase amplification (RPA)
3 Rolling circle amplification (RCA)
4 Exponential amplification reaction (EXPAR)
5 Exponential strand displacement amplification(E-SDA)

شکل ۱ نمونه محصول شرکت ابوت [۱۴]

۲-۲ واکنش زنجیره‌ای پلیمراز از نوع محل مراقبت از بیمار[1]

روش RT-PCR برای تشخیص مولکولی اسید نوکلئیک SARS-CoV-2 استانداردی طلایی است. مدت زمان تشخیص از چند دقیقه تا چند ساعت طول می‌کشد که به نوع فناوری به‌کاررفته بستگی دارد. تشخیص مولکولی می‌تواند تحت تأثیر عوامل زیادی باشد. اگرچه SARS-CoV-2 از نمونه‌های تنفسی مختلفی از جمله سواپ گلو، بزاق دهانی حفره حلقی، سواپ‌های حلقی، خلط و مایع برونشیت تشخیص داده شده است، ولی بار ویروسی در نمونه‌های دستگاه تنفسی تحتانی بیشتر است. علاوه بر این، اسید نوکلئیک ویروسی زمانی‌که نمونه‌های تنفسی منفی هستند، در نمونه‌های روده و خون نیز یافت شده است. لازم به ذکر است، بار ویروسی در اوایل بیماری بیشتر بوده و با ادامه پیداکردن بیماری کاهش پیدا می‌کند. بر این اساس، زمان استفاده از سواپ‌های خوراکی، نتایج منفی کاذب می‌تواند رایج باشد. بنابراین برای تأیید مثبت یا منفی‌بودن نمونه با استفاده از روش PCR لازم است ملاحظه‌های نوع نمونه و علایم دیگر را در نظر گرفت [۱٤]. شیوع بیماری کرونا سبب شد تا به روند کوچک‌سازی و افزایش سرعت روش RT-PCR توجه شود. در این پاندمی شرکت‌هایی نظیر Mesa Biotech، Cepheid، Qiagene، Fluidigm و BioMérieux محصولاتی بر پایه RT-PCR از نوع محل مراقبت ارائه داده‌اند [۱۵–۱۷]. در این نوع PCR، کل مواد، بافرها و ترکیب‌های موردنیاز در یک کارتریج جاسازی شده است و نمونه جداشده بدون هیچ‌گونه عملیات تخلیصی RNA به کارتریج اضافه شده و در دستگاه آنالیز نمونه (که از نظر ابعادی هم کوچک شده است) قرار می‌گیرد و در زمانی کمتر از ۱۸۰ دقیقه نتیجه مشخص خواهد شد. در فرایند کوچک‌سازی شرکت ویزبی مدیکال [۱۸] توانسته است کوچک‌ترین اندازه را ارائه کند. این دستگاه یک‌بار مصرف بوده و مجوز استفاده در منزل را نیز کسب کرده است (**شکل ۲**).

1 polymerase chain reaction for Point of care (PCR-POC)

شکل ۲ سامانه تشخیص سریع ژنومی کووید ۱۹ شرکت ویزبی مدیکال[1][۱۸]

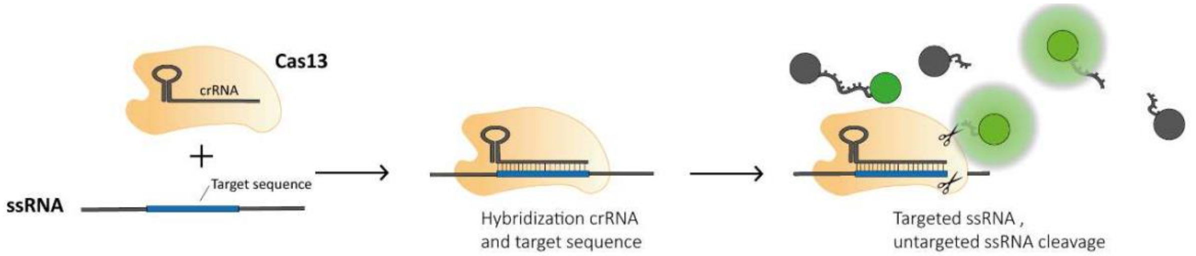
1 visbymedical

۲-۳ فناوری کریسپر

روش‌های تکثیر هم‌دمای مختلفی مانندLAMP و RPA توسعه پیدا کرده‌اند که سریع‌تر از PCR هستند و می‌توانند در دمای ثابت کار کنند. همچنین نیاز به تجهیزات پیشرفته مانند ترمال سایکلر حرارتی ندارند. اما با وجود این مزایای جدید حساسیت و اختصاصیت روش‌های هم‌دما کافی نیست، به‌خصوص در مورد بیماری‌هایی که تغییر یک تک‌نوکلئوتید می‌تواند در امر تشخیص اهمیت پیدا کند. بنابراین، نیاز به ابزارهای تشخیصی مبتنی بر اسید نوکلئیک با ترکیب حساسیت، اختصاصیت و انعطاف‌پذیری بالا برای تشخیص ژنومی است که با وجود سودآوربودن، سریع و آسان‌تر از روش‌های هم‌دما عمل کند [۱۹].

پروتئین‌های CRISPR/Cas (تکرارهای کوتاه پالیندرومیک به‌صورت منظم و خوشه‌ای) در کاربردهای سنجش نوکلئوتید استفاده شده‌اند و نشان داده شده است که در ترکیب با (g) RNAs می‌توانند با کارایی بالا توالی‌های مورد هدف از اسیدهای نوکلئیک را شناسایی کنند. بنابراین در ترکیب با دستگاه‌های POC برای ردیابی اسید نوکلئیک بسیار موثر خواهند بود. آزمایش‌های تشخیصی مبتنی بر CRISPR در مجموع یک بستر نوپا برای تشخیص عوامل بیماری ویروسی و باکتریایی فراهم می‌کند. روش‌هایی مانند SHERLOCK[1] (قفل بازکننده آنزیمی با حساسیت بالا) که معمولاً از یک فرایند دو مرحله‌ای استفاده می‌کند (تکثیر رشته هدف و به دنبال آن تشخیص اسید نوکلئیک با واسطه CRISPR)، برای تشخیص SARS-CoV-2 استفاده شده است. در روش شرلوک RNA SARS-CoV-2 به‌وسیله RNA راهنما که آنزیم Cas13 را فعال می‌کند، شناسایی می‌شود و سپس توالی گزارشگر متصل به برچسب الکتروشیمیایی به‌وسیله آنزیم برش می‌خورد. در ادامه برچسب در یک الکترود اکسید شده و جریان قابل اندازه‌گیری تولید می‌شود. یک حالت دیگر برای سنجش عملکرد آنزیم این است که روش برچسب‌گذاری بر پایه FRET رنگ‌های فلورسانس استفاده شود و سیگنال فلورسانس تولیدی اندازه‌گیری شود (شکل ۳). مدل‌های CRISPR دیگری نیز ابداع شده‌اند که با پروتئین‌های Cas9 و Cas12 عمل می‌کنند.

1 specific high-sensitivity enzymatic reporter unlocking



شکل ۳ نمایش شماتیک مکانیسم تشخیص SHERLOCK با استفاده از پروتئین Cas13a برای تشخیص RNA تک‌رشته [۲۰]

با این حال روش‌های اصلی CRISPR پیچیده‌تر از آن است که برای یک روش تشخیص سریع استفاده شود، چرا که نیازمند استخراج RNA و در ادامه چندین مرحله کار با مایعات است که خطر آلودگی نمونه‌ها را نیز افزایش می‌دهد. برای ساده‌شدن روش SHERLOCK یک مدل جدید و کارآمد به اسم STOP (آزمایش SHERLOCK در یک لوله[1]) مطرح شده است که ترکیبی از استخراج ساده RNA ویروسی با تکثیر هم‌دما و تشخیص واسطه CRISPR است. این آزمایش را می‌توان در یک دما و در کمتر از یک ساعت و با حداقل تجهیزات انجام داد [۲۰]. شرکت ماموت برای نمونه توانسته است در زمان پاندمی، نمونه تست سریع ویروس کرونا را بر مبنای CRISPR تولید و تجاری کند (**شکل ٤**).

1 SHERLOCK testing in one pot

شکل ٤ سامانه تشخیص کووید ۱۹ شرکت ماموت [۲۱]

۲-٤ تشخیص سریع سرولوژیک (جریان جانبی)

آنتی‌بادی‌ها، پروتئین‌هایی هستند که گلبول‌های سفید خون بدن را برای مقابله با عفونت تولید می‌کنند و ممکن است مدت‌ها پس از پاک‌شدن عفونت در خون باقی بمانند. سنجش آنتی‌بادی با جستجوی آنتی‌بادی بر ویروس خاص، عفونت‌های فعال (IgM) یا گذشته (IgG) را شناسایی می‌کند. هدف از سنجش آنتی‌بادی این است که آیا بعد از در معرض قرارگرفتن بدن با یک پاتوژن پاسخ ایمنی ایجاد شده است یا خیر، برای مثال افزایش آنتی‌بادی IgG/IgM پاسخ ایمنی ممکن است روزها یا هفته‌ها طول بکشد تا در آزمایش سرولوژی نشان داده شود. آنتی‌بادی‌ها به‌طور معمول در نمونه‌های خون (نمونه خون کامل و یا پلاسما) شناسایی می‌شوند. آزمایش‌های آنتی‌بادی به‌طور معمول نمی‌توانند بیماری را بلافاصله پس از مواجهه تشخیص دهند، زیرا ممکن است یک تا سه هفته ایجاد پاسخ ایمنی و تولید آنتی‌بادی زمان ببرد. نتیجه مثبت نشان‌دهنده این است که فرد پاسخ ایمنی به SARS-CoV-2 داشته است و مستقل از این موضوع است که فرد علایم دارد یا خیر. اینکه آنتی‌بادی‌های تولیدشده بتوانند دربرابر عفونت‌های آینده ویروس SARS-CoV-2 مصونیت ایجاد کند، به ویژگی‌های ویروس و مشخصه‌های فردی وابسته خواهد بود [۲۲].

این روش تشخیصی برپایه ارزیابی اتصال به آنتی‌بادی IgM و IgG موجود در خون فرد مشکوک به بیماری طراحی شده است. با توجه به بررسی هر دو آنتی‌بادی، در این روش دقت تشخیص کیفی افزایش پیدا کرده است. ایمونوگلوبولین (IgM) بزرگ‌ترین آنتی‌بادی بدن است. همچنین اولین آنتی‌بادی است که در پاسخ به قرارگرفتن در معرض اولیه آنتی‌ژن (سموم یا ماده خارجی) ظاهر می‌شود و باعث ایجاد پاسخ ایمنی در بدن می‌شود. IgM اولین خط دفاع زمان عفونت‌های ویروسی را فراهم می‌کند که به دنبال آن تولید پاسخ‌های IgG برای ایمنی طولانی‌مدت و حافظه ایمونولوژیکی ارائه می‌شود. بنابراین، آزمایش آنتی‌بادی‌های IgM و IgG یک روش مؤثر برای شناسایی سریع عفونت COVID-19فعلی یا گذشته است. ابزارهای تشخیص سریع که بر پایه شناسایی آنتی‌بادی IgM و IgG عمل می‌کنند معمولاً به‌صورت تست‌های کاغذی جریان جانبی طراحی و ساخته شده‌اند که در کمتر از ۱۵ دقیقه نتیجه مشخص می‌شود. در شکل ۵ یکی از محصولات تست سریع آنتی‌بادی‌های IgM و IgG از شرکت Hardydiagnosticsآ آورده شده است [۲۳].

شکل ۵ سامانه تشخیص سریع کووید ۱۹ [۲۳] Hardydiagnostics

این روش که برپایه نوارهای کاغذی و مبتنی بر فناوری ایمنی سنجی مبتنی بر جریان افقی سیال حاوی نمونه (LFIA[1]) طراحی شده است، در پد اتصال حاوی نانوذرات طلا است (که به‌وسیله آنتی‌ژن‌های نوترکیب اصلاح شده‌اند) دو خط تشخیص (خطوط G وM) و یک خط کنترل کیفیت (C) بر غشای نیتروسلولز ثبت شده است. خط M و G به‌ترتیب، با استفاده از آنتی‌بادی مونوکلونال ضد انسانی IgM و IgG برای شناسایی آنتی‌بادی کروناویروس IgM و IgG تثبیت شده است.

درنهایت، آزمایش‌های سرولوژیکی SARS-CoV-2 که آنتی‌بادی‌های پروتئین N یا S را تشخیص می‌دهد، می‌تواند تشخیص مولکولی را تکمیل کند. بااین‌حال، میزان و مدت پاسخ‌های ایمنی هنوز مشخص نیست و آزمایش‌های سرولوژی موجود از نظر حساسیت و اختصاصیت متفاوت هستند. بر این اساس در زمان تصمیم‌گیری و تفسیر نتایج باید دقت عمل لازم انجام شود [۲٤].

۵-۲ تشخیص سریع آنتی‌ژن ویروسی[2]

آنتی‌ژن، یک مولکول یا ساختاری است که در قسمت خارجی پاتوژن وجود دارد. روش‌های تشخیص مبتنی بر آنتی‌ژن معمولاً برای شناسایی زودهنگام عفونت فعال در بیماران علامت‌دار استفاده می‌شود. این آزمایش‌ها معمولاً ویروس را از راه تشخیص نوکلئوپروتئین‌ها شناسایی می‌کند. آنتی‌ژن‌های ویروسی اغلب در نمونه‌های گرفته‌شده از مجاری بینی و گلو قابل تشخیص هستند [۲۵]. برای نمونه محصول شرکت Cliphealth به نام The Clip COVID Rapid بر نمونه‌های جداشده از مخاط بینی عملیات شناسایی را در زمان کمتر از ۳۰ دقیقه انجام می‌دهد. این سامانه از یک روش سنجش ایمنی سریع برای اندازه‌گیری آنتی‌ژن، تلفن هوشمند برای آنالیز نتایج و ارائه گزارش و درنهایت یک مبدل اپتیکی برای آشکارگری تشکیل شده است. در کاست LFA که نمونه قرار می‌گیرد، نانومواد فلورسانس جاسازی شده اند که بعد از اتصال با مولکول هدف سیگنال قابل اندازه‌گیری برای دستگاه خوانش تولید می‌کند (**شکل ٦**).

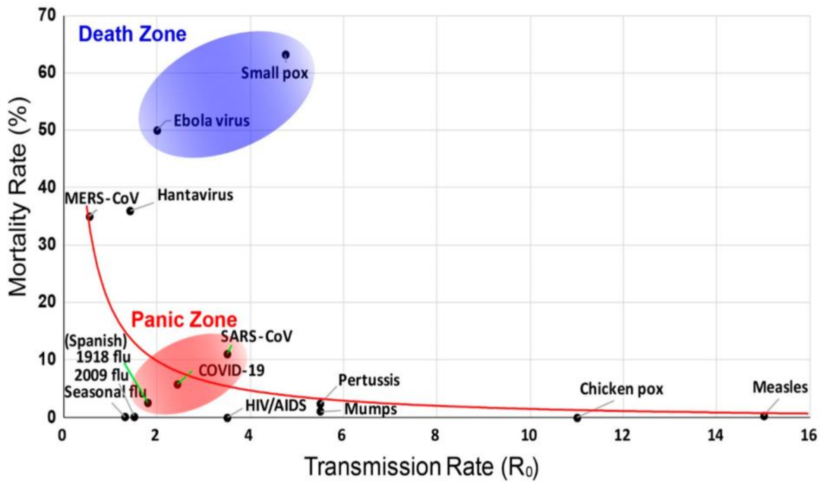
1 lateral flow immunoassay
2 Viral rapid antigen tests

شکل ٦ اجزای سامانه Cliphealth [٢٦]

۳ بحث

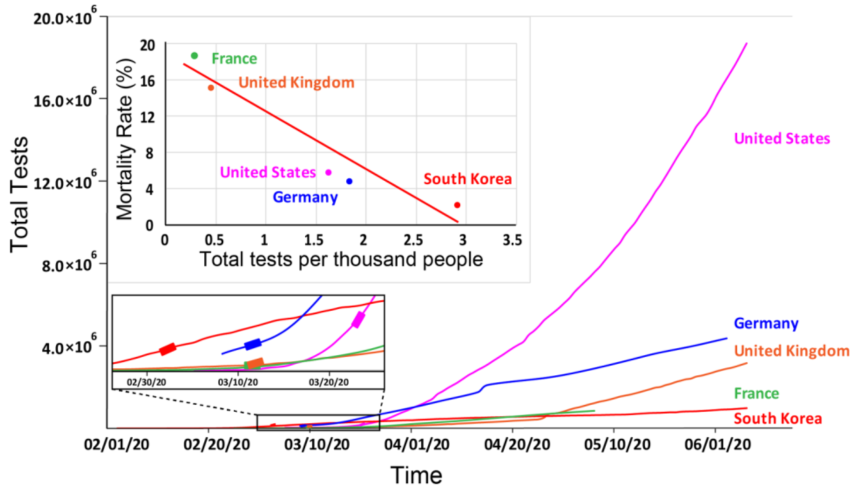
پاندمی کووید ۱۹ با شیوع عوامل عفونی دیگر تفاوت‌هایی دارد که براساس آنها لازم است به روش‌های تشخیص بیماری توجه شده و برای مدیریت بهتر کنترل بیماری بهترین روش انتخاب شود. در نمودار شکل ۷ ویروس‌های مختلف از نظر نرخ مرگ‌ومیر و شیوع با یکدیگر مقایسه شده‌اند. در این نمودار ویروس SARS-CoV-2 در منطقه ویژه «وحشت»[1] قرار می‌گیرد. در مقایسه با ویروس‌های دیگر، ویروس عامل بیماری کرونا سرعت تکثیر متوسط (R_0 =۲/۲۵) و نرخ مرگ‌ومیر متوسط (۵/۷ درصد) دارد. چنین خصوصیاتی فریبنده است. به همین دلیل در آغاز شیوع این ویروس در چین توجه فوری مردم و نظام سلامت کشورهای مختلف جلب نشد، چون به نظر می‌رسید این ویروس در مقایسه با ویروس‌های مرگباری نظیر ابولا و آبله مشکل چندانی ایجاد نکند و کمی از آنفولانزای فصلی سنگین‌تر باشد. با این حال، ویروس خیلی زود ماهیت مخرب خود را نشان داد. بدون درمان و واکسن مؤثر، بیماری به‌سرعت گسترش پیدا کرد و سیستم‌های بهداشتی تحت فشار قرار گرفتند. از طرف دیگر چون تمام مبتلایان علایم مشخصی ندارند، به همین دلیل بدون اقدام‌های مؤثر، ویروس به‌راحتی در جامعه پخش شده و درصد بسیاری از افراد را درگیر می‌کند و از این بابت با بیماری‌های دیگری نظیر SARS که در سال ۲۰۰۳ کنترل شد، تفاوت دارد. با توجه به ویژگی این ویروس که شیوع متوسط، نرخ مرگ‌ومیر متوسط و ناقلان بی‌علامت دارد، استفاده از روش‌های تشخیصی در مراحل اولیه ابتلای فرد و پیگیری روند درمان نقش بسیاری در کنترل بیماری خواهد داشت [٢٤] (شکل ۷).

1 Panic zone



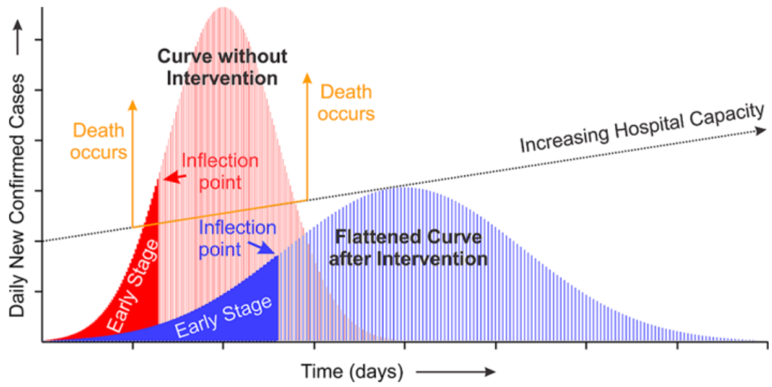
شکل ۷ نرخ مرگ نسبت به نرخ تکثیر در ویروس‌های مختلف [٢٤]

برای مثال در نمودار **شکل ۸** از میان پنج کشور با توزیع سنی و امکانات بیمارستانی مشابه، کشورهایی که زودتر اقدام‌های تشخیصی را در مقیاس وسیع انجام دادند، مانند کره جنوبی، نرخ مرگ‌و میر در آنها پایین‌تر است.



شکل ۸ اهمیت حیاتی تشخیص زودهنگام در شیوع کووید ۱۹. آزمایش‌های روزانه کووید ۱۹ برای ۵ کشور با منابع پزشکی مشابه و توزیع سنی نشان داده شده است. نمودار پیوست‌شده میزان مرگ‌ومیر در تاریخ ۷ ژوئن ۲۰۲۰ نسبت به تعداد تشخیص زودهنگام به ازای هر هزار نفر از تاریخ ٤ تا ٢٦ مارچ ۲۰۲۰ را نشان می دهد [٢٤].

بر این اساس اگر شناسایی و قرنطینه در مراحل اولیه موج بیماری به‌درستی انجام شود (نمودار آبی)، سرعت شیوع کاهش پیدا می‌کند و علاوه بر کاهش مرگ‌ومیر از اشباع‌شدن ظرفیت بیمارستانی نسبت به حالتی که اقدام‌های تشخیصی و کنترل درستی انجام نشده است (نمودار قرمز)، جلوگیری خواهد شد (**شکل ۹**).



شکل ۹ مقایسه وضعیت شیوع بیماری در حالتی که اقدام‌های تشخیصی و قرنطینه در زمان مناسب (نمودار آبی) انجام شده است و برعکس (نمودار قرمز) [۲٤].

بررسی و ارزیابی مروری انجام‌شده از سامانه‌های تشخیص سریع ویروس SARS-CoV-2 نشان می‌دهد فناوری‌های اصلی که به‌منظور طراحی و ساخت این سامانه‌ها استفاده شده است، در دو دسته کلی دسته‌بندی می‌شوند:

❖ **سامانه‌های تشخیص سریع مولکولی (ژنومی)**

این سامانه‌های تشخیص مولکولی (ژنومی) با هدف تشخیص بخشی از ژنوم RNA ای ویروس SARS-CoV-2 که طول kb ۳۰ دارد و اغلب شامل بخش N، E و S ژنوم ویروس است، طراحی و ساخته می‌شود. لازم به توجه است سامانه‌هایی که در دسته‌بندی بالا قرار می‌گیرند، از فناوری‌های مختلفی برای تشخیص سریع ویروس SARS-CoV-2 استفاده می‌کنند. اما استفاده از نانوذرات مغناطیسی برای تخلیص RNA در همه آنها به‌صورت مشترک وجود دارد. اصلی‌ترین فناوری‌های استفاده‌شده به شرح زیر است:

۱- فناوری RT-PCR-POC که مبتنی بر فناوری همانندسازی زنجیره‌ای پلیمراز و شناسایی ژنومی ویروس استوار است؛

۲- فناوری RT-LAMP که مبتنی بر فناوری همانندسازی ایزوترمال استوار است؛

۳- فناوری موتورهای ژنومی هوشمند (CRISPER) که به‌صورت اختصاصی بخش‌های مشخصی از ژنوم ویروس را انتخاب و برش می‌دهد.

❖ **سامانه‌های تشخیص سریع پایش اتصال ایمنی (ایمنی‌سنجی)**

این سامانه‌های ایمنی‌سنجی به تشخیص وجود آنتی‌ژن و آنتی‌بادی در نمونه‌های زیستی توجه می‌کند. سامانه‌های تشخیص آنتی‌بادی به‌صورت کلی تشخیص وجود مجموع آنتی‌بادی‌های IgG و IgM را انجام می‌دهند:

۱- فناوری پایش جریان جانبی (LFA) که برپایه جریان نانوسامانه‌های تشخیصی بر نوارهای کاغذی نیتروسلولزی طراحی شده است. در این سامانه‌ها با استفاده از نانوذرات کلوئیدی نظیر طلا و نقره به‌صورت رنگ‌سنجی سیگنال تولید می‌شود که خوانش آن با چشم امکانپذیر است. این نوع سامانه‌ها قیمت ارزان‌تری دارند و بدون هیچ دستگاه و وسیله خارجی کار می‌کنند؛

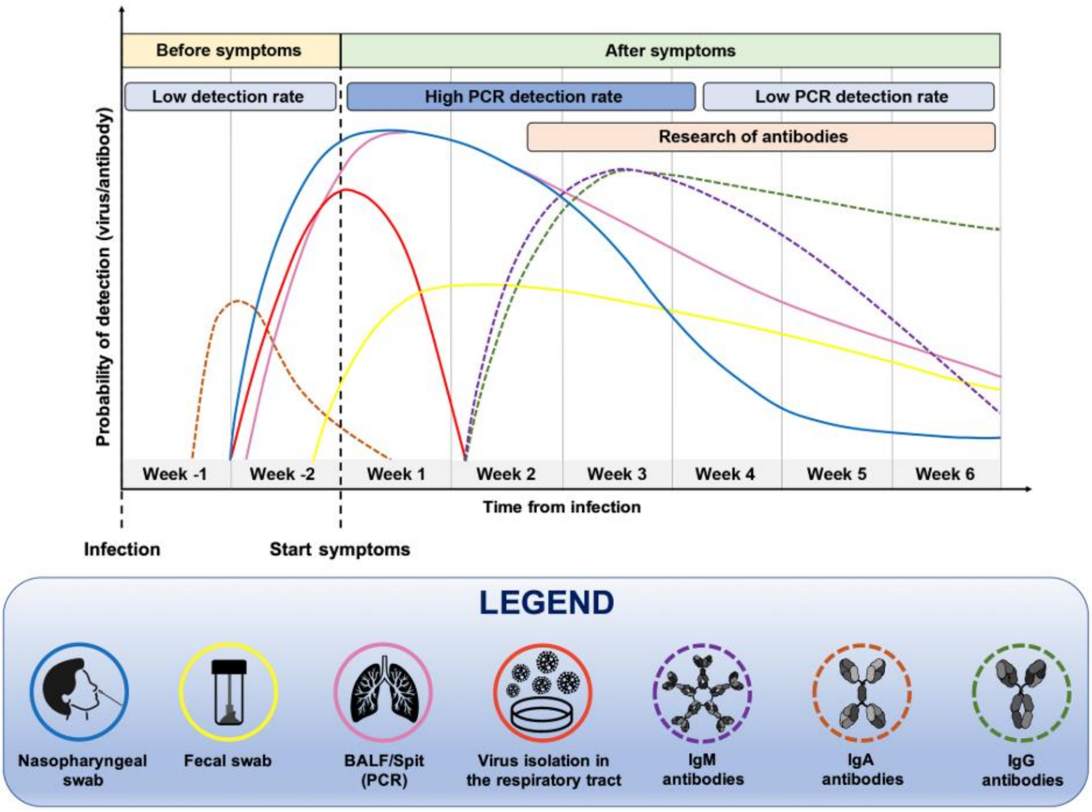
۲- سامانه‌هایی که مبتنی بر ایمنی سنجی فلورسانس (FIA)[1] بوده و سیگنال تولیدی تغییر در نشر فلورسانس است. به همین علت لازم است از دستگاهی برای خوانش پاسخ استفاده شود. با استفاده از دستگاه مذکور علاوه بر افزایش حساسیت می‌توان از فناوری اینترنت اشیا نیز بهره

1 Fluorescence immunoassay

برد و اطلاعات به‌دست‌آمده را ثبت و به مراکز پایش ایمنی ارسال کرد.

همچنین علاوه بر روش‌های بالا، سیستم‌هایی که بتوان با استفاده از آنها توالی‌یابی سریع ویروس‌های جدا شده را انجام داد، اهمیت زیادی خواهد داشت، چرا که روند تغییرات و جهش‌های ویروس، به‌خصوص مناطقی که در ساخت پرایمر روش‌های تشخیصی مولکولی اهمیت دارند، اثر گذار است. از طرفی روش‌هایی که علایم این بیماری را از دیگر بیماری‌ها و بیماران کرونایی پر خطر از کم خطر متمایز کند، اهمیت بسیار زیادی دارد. در این رابطه دو شرکت Beckman Coulter و Roche Diagnostics کیت‌های تشخیص اینترلوکین ٦ را به‌ترتیب با نام‌های تجاری Access IL-6 و Elecsys IL-6 عرضه کرده‌اند[۲۷؛ ۲۸] با تشخیص کمّی این پروتئین خونی که به شناسایی پاسخ التهابی شدید در بیماران مبتلا به بیماری کووید ۱۹ منجر می‌شود، می‌توان همراه با یافته‌های بالینی و نتایج آزمایش‌های دیگر میزان خطر لوله‌گذاری را با تهویه مکانیکی نیز تعیین کرد [۲۹].

با توجه به وضعیت پیشرفت عفونت در مورد ویروس کرونا سرعت ایجاد پاسخ ایمنی مناسب برای هرکدام از روش‌های تشخیصی با توجه به نوع مولکول هدف، نکته‌هایی را باید در نظر گرفت که براساس این نکته‌ها در آغاز نوع روش با توجه به اهداف مشخص و درنهایت نوع محصول براساس ویژگی‌های تأییدشده را می‌توان انتخاب کرد [۳۰؛ ۳۱] (شکل ۱۰).



شکل ۱۰ زمان و نوع نمونه‌هایی که برای تشخیص مؤثر ویروس SARS-coV-2 و یا ایمنی ایجادشده باید تجزیه و تحلیل شوند [۳۲].

جدول ۱ ویژگی‌های کلی روش‌های سریع استفاده شده در کنترل بیماری کووید ۱۹ را نشان می‌دهد. علاوه بر این، جدول ۲ نیز ویژگی‌های مثبت و منفی هریک از دسته محصولات را به تفکیک نشان می‌دهد.

جدول ۱ ویژگی‌های کلی روش‌های سریع استفاده‌شده در کنترل کووید ۱۹

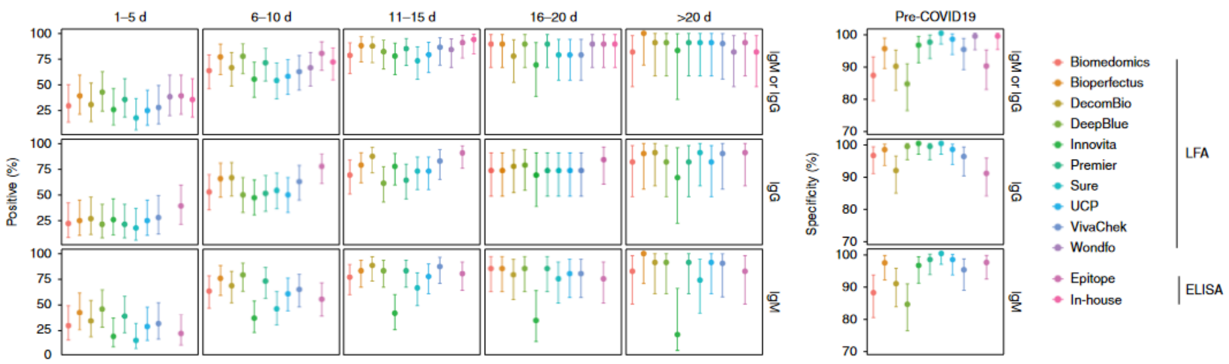
نوع روش	ویژگی	نوع نمونه زیستی	کاربرد
روش‌های مبتنی بر تشخیص مولکولی (ژنومی)	* حساسیت بالایی دارند. روش‌های مختلف از این بابت با یکدیگر متفاوتند و به‌صورت عدد LOD مشخص می‌شوند. * معمولاً اختصاصیت بالا دارند. * قابل شناسایی عفونت در مراحل اولیه بیماری هستند. * در روش‌های کمّی، تعیین دوز ویروس که فرد را آلوده کرده است، برای مثال از عدد CT در RT-PCR امکانپذیر است. * گران‌قیمت، سرعت کم، نیازمند به افراد ماهر و دستگاه‌های اختصاصی	مخاط بینی و بزاق	* شناسایی سریع موارد مبتلا * شناسایی در مراحل اولیه بیماری * تا حدی تعیین شدت بیماری
روش‌های مبتنی بر تشخیص آنتی‌بادی	* از آن‌جایی‌که سطح آلودگی افراد و همچنین نوع پاسخ ایمنی آنها بسیار متفاوت است، در بررسی‌های انجام‌شده حساسیت این قبیل تست‌ها متفاوت بوده است. * پاسخ کیفی است و عفونت فعال را نشان نمی‌دهد.	خون و پلاسما	* بررسی روند درمان * بررسی عفونت قبلی * بررسی میزان ایمنی فرد * بررسی عملکرد دارو * بررسی عملکرد واکسن * بررسی میزان آنتی‌بادی موجود در پلاسمای اهدایی
روش‌های مبتنی بر تشخیص آنتی‌ژن	* می‌تواند افراد دارای علایم را متمایز کند و به همین دلیل برای افراد بدون علامت کارایی ندارد. * میزان آلودگی افراد مختلف متفاوت است و به همین دلیل حساسیت این تست‌ها بسیار متغیر است. برای CTهای پایین‌تر از ۱۶، این روش حساسیت خوبی دارد ولی در موارد دیگر حساسیت تا ۴۰ درصد هم گزارش شده است. * سریع، ارزان و در محصولاتی که دستگاه خوانش دارند، حساسیت بهتری نشان داده شده است.	مخاط بینی و بزاق	* تا حدی می‌توانند در مراحل اولیه عفونت را نشان دهد، به‌خصوص در افراد دارای علایم

جدول ۲ نقاط قوت و ضعف روش‌های سریع استفاده‌شده در کنترل کووید ۱۹

نوع روش	نوع محصول	مزایا	محدودیت‌ها
روش‌های مبتنی بر تشخیص مولکولی (ژنومی)	RT-PCR POC	* حساسیت و اختصاصیت بالا * سرعت زیاد * نیازنداشتن به نیروی ماهر * امکان تولید پاسخ کمّی * انعطاف‌پذیری تغییر روش در جهش‌ها	* برای افزایش سرعت و نیازنداشتن به افراد ماهر، پیچیدگی سیستم‌ها و متعاقب آن هزینه زیادشده است و بیشتر باعث کاهش بازدهی تست (تعداد تست در یک روز به ازای هر دستگاه) و درنتیجه سرعت تشخیص شده است.
	LAMP	* سرعت زیاد * هزینه کم * به دستگاه‌های پیچیده نیاز ندارد. * انعطاف‌پذیری تغییر روش در جهش‌ها	* حساسیت و اختصاصیت بسیار کمتر نسبت به دیگر روش‌های ژنومی که ناشی از روش به‌کارگیری برای تشخیص سیگنال است. * پاسخ کیفی
	CRISPR	* حساسیت و اختصاصیت بسیار بالا	* روش جدید و در حال توسعه است به همین

		* سرعت زیاد در حالت‌های بهبود یافته * انعطاف پذیری تغییر روش در جهش‌ها	دلیل در حال حاضر از نظر هزینه سودآور نیست. * پاسخ کیفی
روش‌های مبتنی بر تشخیص آنتی‌بادی	IgM-IgG LFA	* اختصاصیت زیاد * سرعت زیاد * ارزان‌قیمت	* حساسیت کم * اختصاصیت کم * عدم تشخیص در مراحل اولیه * پاسخ کیفی در مدل‌هایی به‌صورت نیمه کمی * عدم انعطاف‌پذیری تغییر روش در جهش‌ها
روش‌های مبتنی بر تشخیص آنتی‌ژن	Ag LFA	* امکان تشخیص در مراحل به‌نسبت اولیه * اختصاصیت زیاد * سرعت زیاد * ارزان‌قیمت	* حساسیت کم * پاسخ کیفی * عدم انعطاف‌پذیری تغییر روش در جهش‌ها
	Ag FIA	* امکان تشخیص در مراحل به‌نسبت اولیه * اختصاصیت زیاد * سرعت زیاد * حساسیت بهتر از Ag LFA	* حساسیت کم نسبت به روش‌های ژنومی * هزینه * پاسخ کیفی در مدل‌هایی به‌صورت نیمه کمی *عدم انعطاف‌پذیری تغییر روش در جهش‌ها

علاوه بر نوع فناوری، تفاوت ایده‌ها، ابزارها و مواد استفاده‌شده سبب میشود که محصولی با فناوری مشابه از شرکت‌های متفاوت، کیفیت‌های یکسانی نداشته باشند. اطلاع از این جزئیات در انتخاب محصول به‌خصوص ابزارهای تست سریع ویروس SARS-CoV-2 اهمیت بسیاری دارد. بر این اساس مطالعه‌های بسیاری برای ارزیابی محصولات مشابه طراحی و ارزیابی شده است، برای نمونه در شکل ۱۱ نتیجه یکی از مطالعه‌ها (که روی ۱۲محصول تست آنتی‌بادی است) نشان داده شده است. این محصولات از نظر حساسیت نسبت به روز شروع عفونت با یکدیگر مقایسه شده‌اند [۳۳].



شکل ۱۱ مقایسه ۱۲ محصول تست آنتی‌بادی از نظر حساسیت به تفکیک روز شروع عفونت [۳۳]

۴ نتیجه‌گیری

با توجه به ویژگی‌ها و کاربردهای فناوری‌های مهم در تولید ابزارهای تست سریع ویروس SARS-CoV-2 محصولات بسیار متنوعی تولید شده است و به این دلیل انتخاب محصول مناسب با پیچیدگی‌هایی همراه است. مطالعه مقایسه‌ای بالا نشان می‌دهد که دو عامل اصلی

کارکردی سامانه‌های تشخیصی، یعنی حساسیت و دقت تشخیص از یک‌سو و سهولت، سرعت و هزینه تست از سوی دیگر تعیین اولویت توسعه این فناوری‌ها در شرایط زمینه‌ای مختلف را تحت تأثیر خود قرار می‌دهد. به عبارت دقیق‌تر با توجه به ویژگی‌های زمینه‌ای و زیرساختی، فناوری کارامد در کنترل اپیدمی ناشی از ویروس SARS-CoV-2 متفاوت خواهد بود. همان‌گونه که از بررسی مقایسه‌ای نتیجه‌گیری می‌شود، از میان فناوری‌هایی که به‌منظور تشخیص سریع ویروس SARS-CoV-2 استفاده شده است، فناوری RT-LAMP بیشترین حساسیت و انتخاب‌پذیری و نیز کمترین نقاط ضعف را دارد. همچنین در کمتر از یک ساعت پاسخ این روش مشخص می‌شود که از نظر به‌کارگیری به‌عنوان ابزار تست سریع اهمیت زیاد دارد. البته هزینه بالا، نیازمندی به مهارت در بهره‌برداری و سطح بالای فناوری از نقاط ضعف این فناوری محسوب می‌شود. درنتیجه باید اذعان داشت درصورتی‌که بتوان با فناوری ایزوترمال سامانه‌های تشخیص سریع را طراحی و تولید کرد، بازده و بهره‌وری بالایی در تأمین اهداف تشخیصی در شرایط اپیدمی مشاهده خواهد شد. همچنین در شرایط گسترش جهشی همه‌گیری به‌منظور کاهش تقاضا برای روش‌های تشخیص ژنومی که دقت بالایی دارند، از روش‌های تشخیص ایمنی‌سنجی خونی جمعیت مشکوک به روش‌های مختلف به‌ویژه روش جریان جانبی می‌توان بهره گرفت.

۵- منابع

[1] B. Hu, “Characteristics of SARS-CoV-2 and COVID-19,” *Nat. Rev. Microbiol.*, no. December, 2019, doi: 10.1038/s41579-020-00459-7.

[2] T. Wang *et al.*, “Comorbidities and multi-organ injuries in the treatment of COVID-19,” *Lancet*, vol. 395, no. 10228, p. e52, 2020, doi: 10.1016/S0140-6736(20)30558-4.

[3] C. Menni *et al.*, “Real-time tracking of self-reported symptoms to predict potential COVID-19,” *Nat. Med.*, vol. 26, no. July, 2020, doi: 10.1038/s41591-020-0916-2.

[4] B. Udugama *et al.*, “Diagnosing COVID-19 : The Disease and Tools for Detection,” *ACS Nano*, vol. 14, pp. 3822–3855, 2020, doi: 10.1021/acsnano.0c02624.

[5] N. Ravi, D. L. Cortade, E. Ng, and S. X. Wang, “Diagnostics for SARS-CoV-2 detection : A comprehensive review of the FDA-EUA COVID-19 testing landscape,” *Biosens. Bioelectron.*, vol. 165, no. April, p. 112454, 2020, doi: 10.1016/j.bios.2020.112454.

[6] Z. Qin, R. Peng, I. K. Baravik, and X. Liu, “Fighting COVID-19 : Integrated Micro- and Nanosystems for Viral Infection Diagnostics,” *Matter*, vol. 3, no. 3, pp. 628–651, 2020, doi: 10.1016/j.matt.2020.06.015.

[7] B. Giri, S. Pandey, R. Shrestha, K. Pokharel, F. S. Ligler, and B. B. Neupane, “Review of analytical performance of COVID-19 detection methods,” *Anal. Bioanal. Chem.*, vol. 413, pp. 35–48, 2021.

[8] “Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Emergency Use Authorizations for Medical Devices.” https://www.fda.gov/medical-devices/emergency-use-authorizations-medical-devices/coronavirus-disease-2019-covid-19-emergency-use-authorizations-medical-devices.

[9] “COVID-19 Diagnostics & testing,” [Online]. Available: https://www.finddx.org/covid-19/.

[10] “RADx Programs,” [Online]. Available: https://www.nih.gov/research-training/medical-research-initiatives/radx/radx-programs.

[11] C. This *et al.*, “Assay Techniques and Test Development for COVID-19 Diagnosis,” *ACS Cent. Sci.*, 2020, doi: 10.1021/acscentsci.0c00501.

[12] I. K. Rai, Praveen,Ballamoole Krishna Kumar, Vijaya Kumar Deekshit, Indrani Karunasagar, “Detection technologies and recent developments in the diagnosis of COVID-19 infection,” *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2021, doi: 10.1007/s00253-020-11061-5.

[13] W. Feng *et al.*, “Molecular Diagnosis of COVID-19: Challenges and Research Needs,” *Anal. Chem.*, 2020, doi: 10.1021/acs.analchem.0c02060.

[14] Zhu, Hanliang, H. Zhang, S. Ni, M. Korabečná, L. Yobas, and P. Neuzil, “The vision of point-of-care PCR tests for the COVID-19 pandemic and beyond,” *Trends Anal. Chem.*, vol.

challenges," *Lancet Infect. Dis.*, vol. 3099, no. 21, pp. 21–26, 2021, doi: 10.1016/S1473-3099(21)00048-7.

[26] "Clip COVID Rapid Antigen Test," [Online]. Available: https://cliphealth.com/.

[27] "Access IL-6 Assay." https://www.beckmancoulter.com/products/immunoassay/access-il-6-assay.

[28] "Elecsys® IL-6 Early marker in acute inflammation." https://diagnostics.roche.com/global/en/products/params/elecsys-il-6.html.

[29] R. Weissleder, H. Lee, J. Ko, and M. J. Pittet, "COVID-19 diagnostics in context," *Sci. Transl. Med.* |, vol. 2019, pp. 1–7, 2020.

[30] V. Bhavana, P. Thakor, S. B. Singh, and N. K. Mehra, "COVID-19: Pathophysiology, treatment options, nanotechnology approaches, and research agenda to combating the SARS-CoV2 pandemic," *Life Sci.*, p. 118336, 2020, doi: 10.1016/j.lfs.2020.118336.

[31] V. Haldane *et al.*, "Health systems resilience in managing the COVID-19 pandemic: lessons from 28 countries," *Nat. Med.*, pp. 1–7, 2021, doi: 10.1038/s41591-021-01381-y.

[32] L. Falzone, G. Gattuso, A. Tsatsakis, D. A. Spandidos, and M. Libra, "Current and innovative methods for the diagnosis of COVID - 19 infection (Review)," *Int. J. Mol. Med.*, vol. 47, pp. 1–23, 2021, doi: 10.3892/ijmm.2021.4933.

[33] J. D. Whitman *et al.*, "Evaluation of SARS-CoV-2 serology assays reveals a range of test performance," *Nat. Biotechnol.*, vol. 38, no. October, pp. 1174–1183, 2020, doi: 10.1038/s41587-020-0659-0.

130, pp. 1–13, 2020, doi: 10.1016/j.trac.2020.115984.

[15] M. Allam, S. Cai, S. Ganesh, M. Venkatesan, C.-S. Group, and A. F. Coskun, "COVID-19 Diagnostics, Tools, and Prevention," *Diagnostics*, vol. 10, no. 6, pp. 1–33, 2020, doi: 10.3390/diagnostics10060409.

[16] B. H. Foy, J. C. T. Carlson, E. Reinertsen, R. P. I. Valls, R. P. Lopez, and E. Palanques-tost, "Association of Red Blood Cell Distribution Width With Mortality Risk in Hospitalized Adults With SARS-CoV-2 Infection," *JAMA Netw. Open*, vol. 3, no. 9, pp. 1–13, 2020, doi: 10.1001/jamanetworkopen.2020.22058.

[17] L. Xu, D. Li, S. Ramadan, Y. Li, and N. Klein, "Biosensors and Bioelectronics Facile biosensors for rapid detection of COVID-19," *Biosens. Bioelectron.*, vol. 170, no. August, p. 112673, 2020, doi: 10.1016/j.bios.2020.112673.

[18] "Instrument-free PCR," [Online]. Available: https://www.visbymedical.com/covid-19-test/.

[19] L. Zhou *et al.*, "Programmable low-cost DNA-based platform for viral RNA detection," *Sci. Adv.* |, no. September, pp. 1–10, 2020.

[20] M. F. Wolthuis, J. C. T. Eijkel, and L. I. Segerink, "Point-of-care CRISPR/Cas nucleic acid detection: Recent advances, challenges and opportunities," *Biosens. Bioelectron.*, p. 112445, 2020, doi: 10.1016/j.bios.2020.112445.

[21] "A CRISPR-based detection solution for SARS-CoV-2," [Online]. Available: https://mammoth.bio/covid/.

[22] Q. Chen, Z. He, F. Mao, H. Pei, H. Cao, and X. Liu, "Diagnostic technologies for COVID-19 : a review," *RSC Adv.*, vol. 10, p. 35257, 2020, doi: 10.1039/d0ra06445a.

[23] "Covid Antibody and Antigen Test Kits." https://hardydiagnostics.com/coronavirus-covid-19-update/.

[24] P. Pokhrel, C. Hu, and H. Mao, "Detecting the Coronavirus (COVID-19)," *ACS Sensors*, vol. 5, no. 8, pp. 2283–2296, 2020, doi: 10.1021/acssensors.0c01153.

[25] P. R. W. Peeling, P. P. L. Olliaro, D. I. Boeras, and N. Fongwen, "Personal View Scaling up COVID-19 rapid antigen tests : promises and

An overview of rapid detection systems for COVID-19 and their technological classification

Zeinab Bagheri[1], Aboulfazl Mirzapoor[*2]

1. Assistant Professor, Department of Cell & Molecular Biology, Faculty of Life Sciences & Biotechnology, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran.
2. Assistant Professor, Department of Nanobiotechnology, Faculty of Biological Sciences, Tarbiat Modares University, P.O. Box 14115-175, Tehran, Iran.

Receipt: 2021/08/29 Accepted: 2021/01/09

Rapid test methos are laboratory instruments used at the point of care and in suspected cases. In an ideal rapid detection method, preparing a sample to achieve an analytical result should be as quick as feasible, and inexperienced operators must also be able to perform the protocols and comprehend the results. It is better to perform all the steps to accomplish such a process, including sample preparation, detection procedure, and acquisition of an intelligible signal in one device. These assay systems can include microfluidic chips, paper-based sensors, or even single-tube reactions. During the corona pandemic, various technologies were introduced to rapidly detect the SARS-CoV-2 virus, based on which various products have been commercially produced. Due to the sensitivity of the diagnosis at different stages of the disease, only a few technologies could be applied in practice. In this article, these products were categorized based on technological properties. They were also compared in terms of various parameters such as sensitivity, accuracy, cost, and speed of diagnosing and controlling the COVID-19 pandemic. Finally, the best technology that can play a significant role in disease control is introduced.

Keywords: rapid detection, SARS-CoV-2 virus , technological classification.