

نویسندگان:
دکتر حمیدرضا ملایی^۱، مهندس مریم صادق پور^۲،
۱-مدیر تولید ۲-مدیر تضمین کیفیت
شرکت آریاناپان آزما

کاربرد روش ایمنوفلورسانس در تولید کیت‌های تشخیصی و دستگاه‌های POCT

دینامیکی، پایداری سیگنال و سرعت آزمون، برتری قابل توجهی نسبت به الایزا دارد. روش‌های ایمنونوشیمیایی مبتنی بر واکنش اختصاصی آنتی‌ژن و آنتی‌بادی، ابزار کلیدی در تشخیص‌های آزمایشگاهی مدرن است [۲]. در روش الایزا، آشکارسازی معمولاً از طریق واکنش آنزیمی و تغییر رنگ کروموژن از طریق تاثیر آنزیم بر سوبسترا، صورت می‌گیرد. آنتی‌بادی با آنزیمی به نام HRP (Horse radish peroxidase) نشان‌دار می‌شود و در انتهای فرایند، با اضافه کردن سوبسترای بنام TMB (Tetramethylbenzidine) واکنش آنزیمی انجام شده که این امر با تغییر رنگ محیط واکنش نمایان می‌شود. این یک واکنش برگشت‌پذیر بوده و باید پس از مدتی متوقف شود، بنابراین با اضافه کردن محلول اسیدی به محیط، واکنش متوقف می‌شود.

یکی از ایرادات روش الایزا داشتن پروسه‌های یک تا چند مرحله‌ای انکوباسیون است که مابین هر یک از مراحل انکوباسیون نیز به منظور حذف مواد اضافی از محیط واکنش و حذف اتصالات سست بین آنتی‌بادی با آنتی‌بادی و آنتی‌ژن، همچنین حذف اتصالات غیراختصاصی، شستشو با محلول‌های نمکی حاوی دترژنت انجام می‌گیرد. هرگونه خطا در هر یک از این مراحل سبب تاثیرپذیری نتیجه آزمون می‌شود. اغلب کاربران ترجیح می‌دهند که شستشوی بین انکوباسیون‌ها توسط سیستم‌های اتوماتیک و یا نیمه اتوماتیک با نام ELISA Washer صورت پذیرد. علیرغم اتوماتیک شدن این مرحله نیز، عواملی مانند فشار پاشش محلول شستشو، میزان مکش محلول و سرعت بین مراحل شستشو سبب آسیب رساندن به واکنش می‌شود [۳].

در دهه‌های اخیر، پیشرفت در فناوری‌های تشخیص عوامل بیماری‌زا، سبب تحول در سیستم سلامت جهانی شده است. امروزه روش ایمنوفلورسانس یکی از مهم‌ترین فناوری‌هاست که با استفاده از شناساگرهای فلورسنت، امکان شناسایی دقیق و اختصاصی آنتی‌ژن و آنتی‌بادی را فراهم می‌سازد. در کنار آن، ظهور سیستم‌های تشخیصی نقطه مراقبت (POCT) که قابلیت انجام آزمایش بر بالین بیمار، بدون نیاز به تجهیزات بزرگ آزمایشگاهی را دارند، موجب گسترش استفاده از روش‌های ایمنوفلورسانس در کیت‌ها و دستگاه‌های مرتبط مانند آنالایزهای قابل حمل شده است. این مقاله به بررسی اصول روش ایمنوفلورسانس، ساختار کیت‌های تشخیصی مبتنی بر این فناوری، چالش‌ها و چشم‌اندازهای آینده آن می‌پردازد.

روش‌های ایمنونوشیمیایی از پایه‌های اساسی تشخیص آزمایشگاهی محسوب می‌شود و در سال‌های اخیر تحول چشمگیری در دقت و سرعت آزمون‌ها ایجاد کرده است. در این میان، روش ایمنوفلورسانس (FIA) (Fluorescence Immunoassay) به عنوان یکی از پیشرفته‌ترین تکنیک‌ها با توان تفکیک بسیار بالا، حد تشخیص بسیار پایین و وسعت رنج تشخیصی، توانسته جایگاه ویژه‌ای در حوزه کیت‌های تشخیص سریع به دست آورد. بررسی‌های علمی و تحلیلی مختلفی جهت مقایسه روش FIA با متدهای متداول و فراگیری چون روش الایزا (Enzyme Linked Immunosorbent Assay, ELISA) صورت گرفته است، علاوه بر آن کاربردهای بالینی FIA در حوزه‌های تشخیصی از جمله هورمون‌ها، شناسایی عوامل ایجاد کننده بیماری‌های عفونی و التهابی، تومور مارکرها نیز بررسی شده است [۱]. نتایج مختلف و مشاهدات اخیر، نشان می‌دهد که روش ایمنوفلورسانس در بسیاری از شاخص‌های عملکردی از جمله حساسیت، گستره

Lateral flow immunoassay

Strenghts



- Easy to use.
- Low-cost.
- Very fast turn-around time.
- Lightweight and portable.
- Limited sample volume required.
- Limited sample treatment.
- No need of instrumentation.
- Long storage stability (1-2 years).
- Consolidated development process.
- Adequate sensitivity and specificity.
- Skilled personnel no needed.

Weaknesses



- Mainly qualitative or semi-quantitative.
- Solid sample must be extracted.
- Subjective result interpretation.
- Confirmatory analysis needed (usually for positive results).
- Possible batch-to-batch variability.
- Technological improvements usually increase the cost per analysis.

Opportunities



- Can be easily implemented without increasing the workload.
- New (bio)reagents implementation.
- Different detection methods possible.
- Integration with electronics and reader devices.
- Highly scalable and highly marketable.
- Multiplexing strategies.
- Improve decision making.

Threats



- Possible misuse in the case of self-testing or non professional use.
- Bad reputation in case of misuse.
- Possible cross-reactivity.
- Possible misleading result interpretation.
- Possible matrix interference.
- The high business opportunity can attract inexperienced and / or improvised manufacturers.

تصویر ۱: آنالیز SWOT در تست‌های Lateral Flow Assay

استفاده می‌شود. داده‌های اخیر نشان می‌دهد که استفاده از نانوکریستال‌های فلورسنت (QDها) محدودیت‌های موجود در روش‌های آنزیمی و الایزا را از بین می‌برد[۴]. این نانوذرات بسیار مقاوم بوده و با داشتن ظرفیت بالایی برای اتصال به آنتی‌بادی یا آنتی‌ژن می‌توان از آن‌ها برای چندگانه نمودن آزمون‌ها یا مولتی پلکس کردن استفاده کرد. لذا این فناوری، ریزآرایه را با گزینه‌ای جدید از خوانش و سنجش مجهز می‌کند که حساسیت تشخیص را به سطح تک مولکول می‌رساند. کاربرد نقاط کوانتومی هم در زیست‌تراشه‌های حالت جامد (سطح یا سنجش‌های مبتنی بر صفحات کاغذی کروماتوگرافی) و هم در زیست‌تراشه‌های سوسپانسیون (محلول‌های مبتنی بر واکنش آنزیم با سوپسترا) رو به افزایش است و لذا می‌توان از آن به طور فزاینده‌ای برای شناسایی همزمان تعداد بسیار زیادی از مولکول‌ها در پروتئومیکس، ژنومیکس، غربالگری دارو و تشخیص بالینی استفاده کرد.

این سنجش‌ها براساس عناصر کدگذاری شده طیفی (به عنوان یک قاعده، ریزدانه‌های پلیمری) صورت می‌گیرد[۵]. علاوه بر این، استفاده از انتقال انرژی رزونانسی در محلول‌های سوسپانسیونی و صفحات کاغذی، امکان افزایش بهبود ویژگی تشخیصی را فراهم می‌کند. عدم وجود پس‌زمینه فلورسنت ناشی از آنتی‌بادی‌های برچسب‌گذاری شده با رنگ که با سایر اجزاء برهم‌کنش ندارد، حساسیت تشخیص را افزایش می‌دهد و

در پروسه طراحی و تولید کیت الایزا، فرآیندهای مختلفی صورت می‌گیرد که ممکن است تغییر هر یک از آن‌ها به سبب نگهداری ناصحیح مواد اولیه و یا حمل و نقل نامناسب، بر روی نتیجه محصول نهایی تاثیر گذار باشد. بعنوان مثال، درحال حاضر میکروپلیت‌های ۹۶ خانه متفاوتی برای تولید کیت‌های الایزا استفاده می‌شود. استفاده از انواع آنتی‌بادی و زیرکلاس‌های مختلف آن، نوع گونه مربوط به آنتی‌بادی (موشی، خرگوشی و...) و کلون لئفوسیتی تولیدکننده آنتی‌بادی نیز در نتیجه نهایی تاثیرگذار خواهد بود. هر یک از این اجزاء دارای خصوصیات و مشخصات ویژه‌ای خواهد بود که بحث پیرامون آن‌ها یک بررسی جداگانه و اختصاصی‌تر نیاز دارد. در نهایت و با رعایت بسیاری از عوامل از طرف تولیدکنندگان، اغلب کاربران در حین کار با کیت‌های الایزا، دچار خطاهایی می‌شوند که گاهی از حادث شدن آن‌ها بی‌خبر بوده و نتایج را با همان میزان خطا، گزارش می‌کنند در حالی‌که وضعیت بالینی بیماران با نتایج گزارش شده همخوانی ندارد و در تکرار مجدد یا تغییر روش آزمون، نتایج تغییر واضحی خواهد داشت.

امروزه با بهره‌گیری از علم نانوتکنولوژی، نانوذرات مختلفی از جمله نانوذراتی با خاصیت فلورسنت با نام Quanta Dot ساخته شده است که قادر است با جذب یک نور با طول موج خاص، بازتابش نوری با طول موج فلورسنت داشته باشد. از این خصوصیت، برای ساخت و تولید کیت‌های تشخیصی بر پایه ایمنوفلورسنس

قابلیت‌های چندگانه تشخیص و تشخیص مبتنی بر نانوکریستال‌ها را بیشتر تسهیل می‌کند.

بنابراین ترکیب تکنیک‌های نقاط کوانتومی امکان افزایش حساسیت تشخیص و افزایش قابل توجه تعداد اجزای شناسایی شده را فراهم می‌کند. چنین ترکیبی سبب پیشرفت‌های ویژه‌ای در توسعه روش‌های تشخیصی جدید، بیماری‌های بالینی، شناسایی عوامل جدید بیماری و آنتی‌ژن‌های سرطانی و در نهایت درک بهتر مکانیسم‌های تشخیصی، شده است. اگرچه الایزا طی دهه‌های گذشته روش غالب در بسیاری از آزمایشگاه‌ها بوده است، اما محدودیت‌هایی از جمله حساسیت متوسط، وابستگی به مراحل شست‌وشو و تداخل‌های رنگی، امکان تشخیص آنالیت‌های محدود، گرانی قیمت و زمان‌بر بوده و نیازمند حجم نمونه زیاد و روش‌های رقیق‌سازی پیچیده است، همچنین در محدوده دینامیکی محدودی از غلظت‌ها قابل اجرا هستند [۶].

در مقابل، روش ایمنوفلورسانس با استفاده از نانوذرات فلورسنت، آشکارسازی نوری با دقت بسیار بالا را فراهم می‌نماید و امکان انجام تشخیص همزمان یا (Multiplex, Combo) را فراهم می‌کند. به همین دلیل، این روش در سال‌های اخیر به عنوان جایگزینی برای آزمون‌های آنزیمی در بسیاری از کیت‌ها و دستگاه‌های آنالیزور معرفی شده است. روش‌های تشخیصی سریع و دقیق، نقش بسزایی در شناسایی زودهنگام بیماری‌ها و بهبود نتایج درمانی دارد. سیستم‌های نقطه مراقبت (Point of Care Testing) این امکان را فراهم می‌کند تا آزمایش‌های حساس و اختصاصی در محل بیمار یا محیط‌های فاقد امکانات آزمایشگاهی انجام شود.

در این میان، روش ایمنوفلورسانس به دلیل حساسیت بالا، محدوده تشخیص وسیع و قابلیت مینیاتوری شدن، به عنوان یکی از روش‌های پیشرو مطرح است. در سال‌های اخیر، ترکیب فناوری‌های نوری، میکروفلوئیدیک و پردازش سیگنال موجب افزایش دقت و سرعت این روش شده است [۷].

اصول علمی روش ایمنوفلورسانس

ایمنوفلورسانس بر پایه اتصال آنتی‌بادی‌های اختصاصی به آنتی‌ژن‌ها و آشکارسازی آن‌ها با کمک مولکول‌های فلورسنت استوار است. این مولکول‌ها پس از تحریک توسط منبع نوری مانند LED یا لیزر نوری، طول موجی مشخص ساطع می‌کنند که توسط فیلترهای اپتیکی و حسگرهای نوری CCD یا CMOS شناسایی می‌شود. روش‌های مستقیم و غیرمستقیم دو نوع اصلی ایمنوفلورسانس است؛ در نوع مستقیم، آنتی‌بادی به‌طور مستقیم با فلوروفور نشان‌دار می‌شود، در حالی که در نوع غیرمستقیم، از آنتی‌بادی ثانویه فلورسنت برای تقویت سیگنال استفاده می‌شود.

از جمله فلوروفورهای رایج می‌توان به فلئورسئین (FITC)، رودامین، Alexa Fluor و نقاط کوانتومی (Quantum dots) اشاره کرد.

این برچسب‌ها به دلیل پایداری نوری بالا و شدت تابش زیاد، در کیت‌های جدید مورد استفاده قرار می‌گیرد [۸]. در روش ایمنوفلورسنت، آنتی‌بادی یا آنتی‌ژن هدف، با مولکول فلوروفور که معمولاً یک QD است، نشاندار می‌شود. پس از اتصال آنتی‌ژن-آنتی‌بادی، میزان سیگنال فلورسانس متناسب با غلظت آنالیت در نمونه اندازه‌گیری می‌شود. آشکارسازی معمولاً توسط فتومولتی‌پلایر یا آشکارسازهای CCD در دستگاه‌های آنالیزور انجام می‌شود. در نسخه‌های پیشرفته‌تر، مانند فلورسانس با تفکیک زمانی (Time-Resolved Fluorescence Immunoassay, (TR-FIA از برچسب‌های لاتانیدی استفاده می‌شود تا سیگنال از نویز زمینه جدا و دقت افزایش یابد. به کمک این فناوری، حد تشخیص تا سطح پیکوگرم بر میلی‌لیتر قابل دستیابی است که در بسیاری از تست‌های بالینی اهمیت حیاتی دارد [۹].

کاربرد ایمنوفلورسانس در توسعه کیت‌ها

و دستگاه‌های POCT

فناوری ایمنوفلورسانس در کیت‌های تشخیصی که براساس خاصیت نوارهای جانبی (Lateral Flow Assay) عمل می‌کنند از نظر نانوذرات فلورسانس، تراشه‌های میکروفلوئیدیک و دستگاه‌های آنالایزر کوچک قابل حمل در حال توسعه است. در این سیستم‌ها، خوانش سیگنال فلورسانس معمولاً به وسیله دستگاه‌های قابل حمل یا تلفن هوشمند انجام می‌شود. از کاربردهای بالینی این فناوری می‌توان به تشخیص آنتی‌ژن ویروس SARS-CoV-2 در تست‌های سریع کووید-۱۹، تشخیص آنتی‌بادی‌های ضدهسته‌ای (ANA) در بیماری‌های خودایمنی، سنجش تروپونین قلبی، CRP و مارکرهای التهابی اشاره کرد.

نمونه‌هایی از این سیستم‌ها توسط کمپانی‌های مختلفی تولید و در حال بروزرسانی است و در حال حاضر در بیمارستان‌ها و کلینیک‌ها استفاده می‌شوند [۱۰].

مقایسه علمی روش ایمنوفلورسانس و الایزا

مطالعات متعدد نشان داده‌است که روش FIA از نظر حساسیت و دقت نسبت به الایزا برتری دارد. در حالی که الایزا معمولاً در محدوده نانوگرم بر میلی‌لیتر قادر به تشخیص است، FIA به سطح پیکوگرم می‌رسد. علاوه بر این، روش فلورسانس دارای گستره دینامیکی وسیع‌تری است و امکان

هورمونی و اندازه‌گیری دقیق آنالیت‌هایی مانند TSH، LH، FSH، Prolactin و β -hCG حساسیت بالا در زمان کوتاه از مهم‌ترین مزایا است. در بیماری‌های عفونی، FIA قادر به تشخیص سریع آنتی‌ژن‌ها و آنتی‌بادی‌های ویروسی مانند HBV، HCV، HIV و SARS-CoV-2 است همچنین در ارزیابی شاخص‌های التهابی مانند CRP، Ferritin، D-Di-mer و PCT نیز کاربرد گسترده دارد. این روش در مراقبت‌های اورژانسی (POCT) نیز بسیار مورد توجه است زیرا دستگاه‌های قابل حمل فلورسانس، توانایی ارائه نتیجه در کمتر از ۱۵ دقیقه را دارد. پژوهش‌های اخیر نشان داده که میزان توافق بین نتایج FIA و روش‌های مرجع آزمایشگاهی، در محدوده بالاتر از ۹۵٪ است که بیانگر قابلیت اعتماد بالای این فناوری در کاربردهای بالینی روزمره است. [۱۲]

Application Field	Target	Matrix
Clinical	Viruses and related infections	Ebola virus
		HIV-1 and -2
		Noroviruses
		Influenza A/B
		Chikungunya virus
		Dengue virus
	Bacteria and related infections	Herpes simplex virus type 2
		SARS-CoV-2
		Brucellosis
		Helicobacter pylori
	Other infectious diseases	Pneumococcal pneumonia
		Plasmodium falciparum infections
		Scrub typhus
		Burkholderia pseudomallei infections
	Other diseases	Pneumocystis pneumonia
		Strongyloidiasis
		Candidiasis
		Progressive disseminated histoplasmosis
	Cancers	Toxoplasmosis
		Allergic bronchopulmonary aspergillosis
		Fascioliasis
		Chagas disease
	Health status (bio)markers	Cerebral angiostrongyliasis
		Systemic lupus erythematosus
		Sepsis
		Acute hyperglycemia and diabetes mellitus
	Therapeutic drug monitoring	Diabetic retinopathy
		Alpha thalassaemia
		Kidney injury
		Gastric
	Health status (bio)markers	Cervical
		Ovarian
		Bladder
		Prostate
	Therapeutic drug monitoring	Folate
		Hormones
		Cardiac biomarker
		Ferritin
	Therapeutic drug monitoring	Myoglobin
		Tenofovir

تصویر ۲: وسعت استفاده از روش فلورسنت ایمنو اسی در آزمایشات بالینی

مزایا و محدودیت‌های روش

ایمنوفلورسانس

از مزایای برجسته روش ایمنوفلورسانس می‌توان به موارد زیر اشاره کرد:

- حساسیت و ویژگی بالا نسبت به روش‌های کروماتیک
- امکان مولتی‌پلکس و تشخیص همزمان چند آنالیت
- پایداری سیگنال و گستره دینامیکی وسیع
- سرعت بالا و سازگاری با دستگاه‌های خودکار
- کاهش پس‌زمینه و نویز نوری در نسخه‌های FIA-TR

با این حال، هزینه بالاتر تجهیزات نوری، نیاز به کالیبراسیون دقیق و احتمال تداخل فلورسانس زمینه‌ای از جمله

انجام اندازه‌گیری‌های دقیق در غلظت‌های بالا و پایین را به‌طور همزمان فراهم می‌کند. از نظر زمان انجام آزمایش نیز، FIA معمولاً کوتاه‌تر است زیرا مراحل شست‌وشو مکرر و واکنش‌های آنزیمی طولانی حذف می‌شود. در بررسی نسبت سیگنال به نویز، روش فلورسانس به دلیل کاهش تداخلات رنگی و حذف پس‌زمینه نوری عملکرد بسیار بهتری دارد [۱۱].

کاربردهای بالینی روش ایمنی فلورسانس

روش ایمنی فلورسانس در بسیاری از شاخه‌های تشخیص بالینی به‌کار گرفته شده است. تشخیص در زمینه تست‌های

چندتست و قابلیت استفاده از دستگاه‌های خودکار نوری و تقویت کننده سیگنال، از مهم‌ترین نقاط قوت این روش است. بنابراین با گسترش تجهیزات و کاهش هزینه‌ها، انتظار می‌رود FIA به عنوان روش اصلی در بسیاری از حوزه‌های تشخیص آزمایشگاهی جایگزین مناسبی برای روش‌های کروماتیک مانند الیزا شود.

منابع

1. He, T., et al., Development of a receptor-based signal amplified fluorescence polarization assay for multi-detection of 35 sulfonamides in pork. Food Chem X, 2023. 19: p. 100867.
2. Kulkarni, P., S. Taklikar, and D. Turbadkar, Rebuttal to correspondence for "Prospective study to compare results of FIA (fluorescent immunoassay) test with gold standard ELISA test in Dengue NS1 patients admitted in a tertiary care hospital". Indian J Med Microbiol, 2023. 47: p. 100487.
3. Turbawaty, D.K., et al., Standard E TB-Feron ELISA and Standard F TB-Feron FIA positivity rates and agreement with QuantiFERON-TB Gold Plus among TB high-risk population in Bandung, Indonesia. J Clin Microbiol, 2025. 63(4): p. e0148624.
4. Wang, S., et al., A handheld plug-and-play microfluidic liquid handling automation platform for immunoassays. HardwareX, 2023. 14: p. e00420.
5. Satheesh, S.S. and P.S. Mourya Gv, Risk Evaluation of Point-of-Care Testing (POCT) Devices: Insights from a Tertiary Care Hospital. Cureus, 2025. 17(3): p. e80499.
6. Korus, J., et al., Changes of Dissociative Properties of Hemoglobin in Patients with Chronic Kidney Disease. Diagnostics (Basel), 2024. 14(12).
7. Shaikh, S., et al., Point-of-care testing: revolutionizing clinical biochemistry using decentralized diagnostics. J Basic Clin Physiol Pharmacol, 2025. 36(2-3): p. 113-128.
8. Chen, Z., et al., An ultra-sensitive, multiplexed, and cost-effective POCT system for the detection of co-infecting respiratory viruses, including SARS-CoV-2, Flu A, Flu B, and RSV, within 30 min. J Pharm Biomed Anal, 2025. 260: p. 116765.
9. Koski, R.R., M. Klepser, and H. Bronz, CLIA-Waived Group a Streptococcal Pharyngitis Test and Treat Programs in Community Pharmacies. J Pharm Pract, 2025: p. 8971900251345972.
10. Lee, M., et al., A comprehensive Exdia TRF-LFIA for simultaneous quantification of GFAP and NT-proBNP in distinguishing ischemic and hemorrhagic stroke. Clin Chim Acta, 2024. 557: p. 117872.
11. Hamd-Ghadareh, S., A. Salimi, and A. Vaziry, Ultrasensitive Ratiometric Fluorescence Bioassay for Accurate Detection of Covid-19-Specific Nucleocapsid Protein in Clinical Serum Samples Using Modified Cleavable Mesoporous SiO₂ Satellite-Enriched Carbon Dots. ACS Biomater Sci Eng, 2023. 9(9): p. 5279-5292.
12. Hu, J., et al., Sensitive and Quantitative Detection of C-Reaction Protein Based on Immunofluorescent Nanospheres Coupled with Lateral Flow Test Strip. Anal Chem, 2016. 88(12): p. 6577-84.
13. Ma, N., et al., Fluorescence Sensing of Eclampsia Biomarkers via the Immunosorbent Atom Transfer Radical Polymerization Assay. Anal Chem, 2024. 96(21): p. 8450-8457.
14. Nunez, N., J. Saurina, and O. Nunez, An FIA-MS Method for Rapid Coffee Adulteration Detection: A Comparative Study with a Non-Targeted LC-MS Approach. Foods, 2025. 14(17).

محدودیت‌های این روش محسوب می‌شود. با توسعه فناوری‌های نوری و نرم‌افزارهای تصحیح سیگنال، این محدودیت‌ها در حال کاهش است و انتظار می‌رود FIA به روش مرجع بسیاری از تست‌های ایمنی تبدیل شود [۱۰].

پیشرفت‌های تکنیک FIA

تکنیک‌هایی که تکثیر اسید نوکلئیک با سنجش مبتنی بر آنتی‌بادی ترکیب می‌شود، می‌تواند حساسیت سنجش‌های ایمنی مرسوم را به طور چشمگیری افزایش دهد. یکی از کاربردهای این تکنیک، استفاده آنتی‌بادی‌های نشاندار با نانوذرات فلورسنت در واکنش زنجیره‌ای پلیمرز یا PCR است که معمولاً به عنوان ایمونو-PCR یا IPCR شناخته می‌شود. جزء کلیدی یک ایمونو-PCR، کزنوگه DNA-آنتی‌بادی است که به عنوان پلی برای اتصال ایمونواوکنش فاز جامد با تکثیر اسید نوکلئیک عمل می‌کند. کارایی ایمونو-PCR در مقایسه با ELISA، افزایش ۹ تا ۱۰ برابری در حساسیت تشخیص را ممکن می‌سازد. پیشرفت‌ها در ایمونو-PCR شامل بهبود تولید کزنوگه DNA-آنتی‌بادی، قالب‌های سنجش و روش‌های خوانش بوده است. ایمونو-PCR به عنوان یک سنجش پروتئین فوق حساس، طیف گسترده‌ای از کاربردها را در تحقیقات ایمونولوژیکی و تشخیص بالینی دارد [۱۳].

چالش‌ها و چشم‌انداز آینده

اگرچه روش ایمونوفلورسانس حساسیت بسیار بالایی دارد، اما با چالش‌هایی نظیر فوتوبلیچینگ، نویز پس‌زمینه، پایداری پایین فلوروفورها و نیاز به کنترل دقیق اپتیکی مواجه است. از نظر اقتصادی نیز هزینه تولید فلوروفورهای پایدار و مینیاتوری‌سازی تجهیزات نوری از موانع مهم محسوب می‌شود. با این حال، پیشرفت در زمینه نانوذرات فلورسنت، استفاده از کوانتوم‌دات‌ها، و الگوریتم‌های هوش مصنوعی برای تحلیل سیگنال، آینده‌ای روشن برای این فناوری رقم زده است. پژوهش‌های جدید نشان داده‌است که استفاده از نانوذرات طلا و سیلیکا به عنوان حامل فلوروفور، باعث افزایش پایداری و شدت سیگنال می‌شود. از سوی دیگر سیستم‌های ترکیبی مانند ایمونوفلورسانس-الکتروشیمیایی در حال توسعه است که حساسیت را تا چندین برابر افزایش می‌دهند [۱۴].

جمع‌بندی

در مجموع، این مطالعه نشان می‌دهد که روش ایمونوفلورسانس از نظر عملکرد تحلیلی، قابلیت تکرارپذیری و کارایی بالینی نسبت به روش الیزا و روش‌های کروماتیک برتری بالایی دارد. حساسیت بالا، سرعت انجام آزمایش، امکان اجرای همزمان