کیت سنجش CA19-9 به روش الایزا

حیطه کاربرد :

کیت الایزای CA19-9 پیشتاز طب ، برای سنجش کمی CA19-9 در سرم انسان طراحی شده است . این کیت به عنوان یک ابزار کمک تشخیص در بیماران سرطان پانکراس همراه با سایر تظاهرات بالینی و روش های تشخیصی به کار می رود . محتوی این کیت تنها برای تشخیص آزمایشگاهی می باشد .

مقدمه :

تومور مارکر CA19-9 توسط سلول های نئو پلاستیک که در سرطان ها به مقدار زیادی تولید می شوند به داخل جریان خون ترشح می شود . این مولکول اولین بار برای شناسایی سرطان کولورکتال به کار گرفته شد اما بیشتر درتشخیص بیمارانی با سرطان پانکراس به کار گرفته می شود و در تشخیص افتراقی نوع خوش خیم از بدخیم سرطان پانکراس مارکر مفیدی است . گزارشات اخیر نشان میدهد که سطح سرمی CA 19-9 غالبا در بدخیمی های گوناگون معدی – روده ای از قبیل کارسینومای معده و کبد و مجاری صفراوی و روده بزرگ و مری و در برخی شرایط غیر سرطانی مثل بیماری های تیروئید و التهاب روده و پانکراتیت و التهاب مجاری صفراوی و سیروز کبدی افزایش می یابد . افزایش CA 19-9 به همراه CEA (تومور مارکر روده) نشان دهنده تومور و یا بیماری های التهابی کیسه صفرا می باشد . افزایش مقادیر CA19-9 به میزان ۸۰ % در سرطان پانکراس و ۶۷% در سرطان های کبدی – صفراوی ، ۴۰ تا ۵۰% در سرطان معده ،۳۰% در سرطان کولورکتال و ۱۵% در سرطان سینه دیده می شود. همچنین در ۱۰ تا ۲۰% از بیماری های خوش خیم پانکراس و بیماری های معدی – روده ای افزایش نشان می دهد . میزان افزایش CA 19-9 با درجه پیشرفت سرطان پانکراس ارتباط مستقیم دارد . سطوح افزایش یافته این مارکر میتواند عود بیماری را حدود ۱ تا ۷ ماه قبل از رادیوگراف ها ویافته های بالینی نشان دهد ، گرچه درمراحل اولیه پیشرفت بیماری سطح CA 19-9 غالبا نرمال است . حساسیت CA 19-9 در تشخیص سرطان پانکراس ۶۹ تا ۹۳% و ویژه گی ان ۷۶ تا ۹۹% است .

توزیع ایمنوهیستولوژیک CA 19-9 در بافت ها نشان دهنده بدخیمی بافت است و افزایش پایدار CA 19-9 در سرم بیماران تحت درمان می تواند نشان دهنده متاستاز پنهان یا عدم بهبود بیماری باشد . به طور کلی افزایش ماندگار سطح سرمی CA 19-9 می تواند با بدخیمی های پیش رونده و پاسخ های درمانی ضعیف همراه باشد و کاهش CA19-9 نمایانگر پیش آگهی مطلوب و پاسخ خوب به درمان است.

اساس آزمایش :

اساس این کیت به روش ساندویچ و با استفاده از آنتی بادیهای مونوکلونال می باشد . در این روش چاهکها توسط آنتی بادیهایی بر علیه یک شاخص آنتی ژنیک CA19-9 پوشش داده می شوند (Coating) . نمونه بیماران با آنتی بادی پوشش داده شده در ته چاهکها مجاور شده ، پس از انکوباسیون و شستشو ، آنتی بادی ثانویه ضد CA19-9 متصل به آنزیم HRP به چاهکها اضافه شده و انکوبه می گردد . مقدار کمپلکس ایمنی تشکیل شده در چاهکها با غلظت CA19-9 در نمونه ها متناسب است ، پس از شستشو ، محلول رنگزا که محتوی هیدروژن پراکسید (H2O2) وکروموژن است به داخل چاهکها ریخته می شود که رنگ آبی پدید آمده متناسب با کمپلکس ایمنی تشکیل شده در چاهکهاست . با افزودن محلول متوقف کننده رنگ آبی به زرد تبدیل می شود که بهترین جذب نوری را در طول موج ۴۵۰ نانومتر دارد .

محتویات کیت :

۱) پلیت حاوی چاهکهای پوشش داده شده با آنتی بادی ضد CA19-9 (Anti-CA19-9 Coated Plate) .

۲) محلول آنزیم کونژوگه (Enzyme Conjugate) : ویال حاوی محلول کونژوگه آماده مصرف .

۳) سری استانداردها (Standards Set) : شامل ۶ ویال استاندارد با غلظتهای ۰, ۲۵, ۵۰, ۱۵۰, ۳۰۰ و ۶۰۰ U/ml .

۴) سرم کنترل (Control Sera) : دو ویال حاوی سرم کنترل با غلظتهای مشخص شده بر روی برچسب ویال .

۵) محلول اسی بافر (Assay Buffer) : ویال حاوی محلول بافری آماده مصرف .

۶) محلول رنگزای یک مرحله ای (Chromogen-Substrate) : ویال حاوی محلول آماده مصرف .

۷) محلول شستشو (Wash Solution) : ویال حاوی محلول شستشوی غلیظ (۲۰x) . جهت تهیه محلول شستشوی آماده مصرف ، مقدار مورد نیاز را با آب مقطر به نسبت ۱/۲۰ رقیق نمایید .

تهران، شهرک گلستان، بلوار گلها، خیابان یاس سوم، نبش خیابان یاسمن، پلاک۱، کد پستی ۱۴۹۴۷۳۴۴۶۳
تلفن ۴۲۱۹۷۰۰۰ (خط ویژه) فکس ۴۲۱۹۷۰۰۷
sms 300071402 info@pishtazteb.com www.pishtazteb.com
ویرایش دوم – تیر ۱۴۰۰

۸) محلول متوقف کننده (Stop Solution) : ویال حاوی محلول آماده مصرف .
۹) برچسب مخصوص پلیت .

مواد و وسایل مورد نیاز که در کیت موجود نمی باشند :

۱) دستگاه الایزاریدر با طول موج ۴۵۰ نانومتر و در صورت امکان ۶۳۰ نانومتر .
۲) سمپلر های ۲۰ و ۱۰۰ میکرو لیتر دقیق .
۳) آب مقطر .

نکات قابل ذکر برای مصرف کنندگان :

۱) محتویات این کیت برای مصرف در همین کیت طراحی شده است .
۲) از مخلوط کردن محتویات کیتها با شماره ساختهای مختلف جداً خودداری نمایید .
۳) کلیه مواد موجود در کیت که منشاء سرمی دارند از نظر وجود HBsAg و آنتی بادی های ضد HCV و HIV کنترل گردیده اند و فاقد این عوامل می باشند، جهت احتیاط بهتر است کاربرانی که با کیت کار می کنند از تماس مستقیم با مواد بپرهیزند .
۴) نمونه بیماران ، استانداردها ، کنترلها و چاهکهای استفاده شده ، باید به عنوان پسماندهای عفونی در نظر گرفته شوند . تمامی محلولهای واکنش گر و معرفها باید مطابق با مقررات ملی دفع پسماندهای عفونی امحا شوند .

شرایط نگهداری :

۱) کیت را در یخچال بین دمای ۲ تا ۸ درجه سانتی گراد نگهداری نمایید .
۲) چاهکها را در کیسه مخصوص پلیت همراه با نمگیر نگهداری نمایید .
۳) پایداری محتویات کیت تا پایان مدت انقضاء نوشته شده بر روی هر یک از آنها می باشد .
۴) محلول شستشوی آماده مصرف که به نسبت ۱/۲۰ رقیق شده باشد به مدت یک هفته در شرایط ۸-۲ درجه سانتی گراد قابل نگهداری و مصرف می باشد .

جمع آوری و آماده سازی نمونه :

سرم را می توان پس از جدا نمودن از خون استفاده نمود، نمونه را می توان به مدت سه روز در دمای ۲ تا ۸ درجه سانتی گراد و یا برای مدت زمان طولانی تر (حداکثر ۳۰ روز) در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری نمود . در ضمن باید از Freeze-thaw نمودن نمونه پرهیز شود .

توضیحات عمومی :

۱) قبل از شروع مراحل آزمایش تمام مواد و نمونه ها را به درجه حرارت اتاق رسانده و به خوبی تکان دهید تا کاملاً یکنواخت شوند .
۲) بهتر است به محض شروع آزمایش کلیه مراحل بدون توقف انجام پذیرند .
۳) از نوک سمپلر یک بار مصرف برای هر نمونه استفاده کنید .
۴) پس از افزودن محلول متوقف کننده جذب نوری چاهکها حد اکثر تا نیم ساعت قابل قرائت می باشد .
۵) برای کسب نتایج مطلوب باید شستشوی چاهکها به صورت کامل صورت گرفته و آخرین قطرات پس از شستشو از چاهکها تخلیه شود .
۶) از مهمترین فاکتورها در حصول نتیجه مطلوب زمان انکوباسیون مناسب می باشد ، بنابراین پیشنهاد می گردد قبل از شروع آزمایش تمام مواد و محلولهای مورد نیاز را آماده نموده و درب محلولهای مورد نیاز را باز کنید ، این عمل با کاهش فاصله زمانی بین مراحل سمپلینگ باعث نتایج دقیق تر می شود .
۷) به دلیل مشابه در بند ۶ بهتر است که حجم انجام تست محدود باشد و زمان ریختن نمونه ها بیش از ۵ دقیقه بطول نیانجامد .

مراحل انجام آزمایش :

۱) تعداد چاهکهای مورد نظر را انتخاب نموده و باقی چاهکها را به همراه نمگیر درون کیسه مخصوص نگهداری پلیت قرار داده و درب آن را ببندید .
۲) ۱۰۰ میکرو لیتر از محلول اسی بافر (Assay Buffer) را به همه چاهکها اضافه نمایید .

تهران، شهرک گلستان، بلوار گلها، خیابان یاس سوم، نبش خیابان یاسمن، پلاک۱، کد پستی ۱۴۹۴۷۳۴۴۶۳
تلفن ۴۲۱۹۷۰۰۰ (خط ویژه) فکس ۴۲۱۹۷۰۰۷
sms 300071402 info@pishtazteb.com www.pishtazteb.com
ویرایش دوم – تیر ۱۴۰۰

۳) ۲۰ میکرو لیتر از هر استاندارد، سرم کنترل و نمونه را به داخل هر چاهک بریزید (پیشنهاد می گردد که از استانداردها و نمونه ها به صورت داپلیکیت استفاده شود بدین معنی که هر استاندارد و نمونه را در دو چاهک بریزید و در انتها از میانگین جذب نوری آنها برای محاسبه نتایج استفاده کنید) و پلیت را به آرامی به مدت ۱۵ ثانیه تکان دهید تا محتویات آن به خوبی مخلوط شوند درب چاهکها را با برچسب مخصوص پلیت پوشانده و چاهکها را به مدت ۳۰ دقیقه در درجه حرارت اتاق (۲۸-۲۲ درجه سانتی گراد) انکوبه نمایید .

۴) محتویات چاهکها را خالی کرده و چاهکها را پنج بار با محلول شستشوی آماده مصرف بشویید . (برای شستشو می توان از سمپلر ۸ کاناله استفاده نمود ولی باید مواظب بود که محلول شستشو از یک چاهک به چاهک دیگر وارد نشود زیرا می تواند موجب ایجاد خطا در نتیجه آزمایش گردد ، در هر دفعه شستشو حدود ۳۰۰ میکرو لیتر محلول شستشو در هر چاهک ریخته و سپس چاهک ها را با وارونه کردن و تکاندن خالی نمائید و در انتهای عملیات شستشو چاهکها را در حالت وارونه و با ضربات ملایم بر روی یک پارچه یا کاغذ نمگیر بزنید تا قطرات اضافی خارج شوند) .

۵) ۱۰۰ میکرو لیتر از محلول آنزیم کونژوگه (Enzyme Conjugate) را به هر چاهک اضافه نموده ، درب چاهکها را با برچسب مخصوص پلیت پوشانده و چاهکها را به مدت ۳۰ دقیقه در درجه حرارت اتاق (۲۸ – ۲۲ درجه سانتی گراد) انکوبه نمایید .

۶) محتویات چاهکها را خالی کرده و چاهکها را پنج بار با محلول شستشوی آماده مصرف بشویید (همانند بند ۴) .

۷) ۱۰۰ میکرولیتر محلول رنگزا (Chromogen-Substrate) به هر چاهک اضافه نمایید .

۸) چاهکها را به مدت ۱۵ دقیقه در درجه حرارت اتاق و در تاریکی انکوبه نمایید .

۹) با اضافه کردن ۱۰۰ میکرولیتر محلول متوقف کننده (Stop Solution) به هر چاهک ادامه واکنشهای آنزیمی را متوقف نمایید . برای سنجش جذب نوری از دستگاه الایزاریدر با فیلتر ۴۵۰ nm استفاده نمایید . (توصیه می شود از فیلتر ۶۳۰ nm به عنوان فیلتر رفرانس استفاده گردد) .

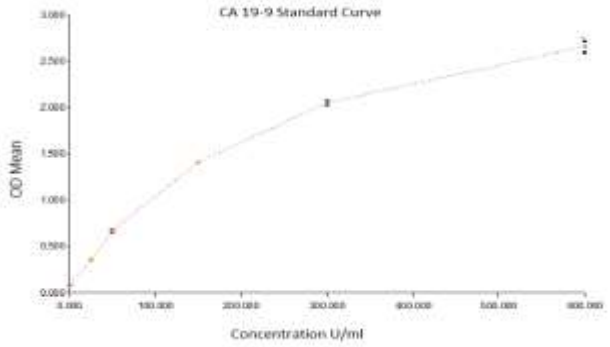
محاسبه نتایج :

از هر دستگاه الایزاریدر با قابلیت سنجش جذب نوری در طول موج ۴۵۰nm میتوان استفاده نمود .

۱) جذب نوری استانداردها و نمونه ها را به کمک دستگاه الایزاریدر در طول موج ۴۵۰nm (و در صورت امکان در مقابل فیلتر رفرانس ۶۳۰ nm) بخوانید .

۲) با استفاده از میانگین جذب نوری استانداردها و غلظت معلوم آنها نموداری (Point to point) رسم کنید به این صورت که جذب نوری استانداردها را روی محور عمودی (Y) و غلظت آنها را روی محور افقی (X) برده و نقطه تلاقی غلظت و جذب نوری را برای هر استاندارد بدست آورید ، سپس نقاط بدست آمده را به یکدیگر وصل نمایید تا منحنی بدست آید .

۳) میانگین جذب نوری برای هر نمونه را بدست آورده و روی محور عمودی جای آن راپیدا کنید، سپس نقطه مذکور را توسط خطی به منحنی وصل نمایید بطوریکه این خط بر محور عمودی کاملاً عمود باشد و بعد از محل تلاقی خط و منحنی ، خطی عمود بر محور افقی وارد کنید ، نقطه تلاقی این خط با محور افقی مقدار غلظت را نشان خواهد داد.



جذب نوری	استانداردها (U/ml)
۰/۰۶	۰
۰/۳۵	۲۵
۰/۶۵	۵۰
۱/۴	۱۵۰
۲	۳۰۰
۲/۶	۶۰۰

توجه : جذبهای نوری و منحنی مربوطه فقط به عنوان نمونه می باشد و هر آزمایشگاه در هر دفعه انجام آزمایش باید منحنی جدیدی رسم نماید .

تهران، شهرک گلستان، بلوار گلها، خیابان یاس سوم، نبش خیابان یاسمن، پلاک۱، کد پستی ۱۴۹۴۷۳۴۴۶۳
تلفن ۴۲۱۹۷۰۰۰ (خط ویژه) فکس ۴۲۱۹۷۰۰۷
sms 300071402 info@pishtazteb.com www.pishtazteb.com
ویرایش دوم – تیر ۱۴۰۰

مقادیر مورد انتظار:

مقادیر نرمال درسرم افراد طبیعی که توسط تستهای مکرر به روش الایزا بدست آمده به قرار زیر می باشد ولی پیشنهاد می گردد که هر آزمایشگاه مقادیر نرمال خود را بدست آورد :

گروه	میانگین غلظت (U/ml)	انحراف استاندارد	محدوده مرجع (۹۵٪ حدود اطمینان)
نرمال	۱۴/۱	۹/۱	تا ۳۷

محدودیت روش اندازه گیری :

نتایج تست می بایست همراه با سایر تست ها و روش های تشخیصی مورد تفسیر قرار گیرد . گاهی اوقات آنتی بادی های هتروفیل که در نمونه سرم برخی از بیماران دیـده می شوند ، با وجود مواد بلاک کننده قوی ضد آنها در محلول های کیت ، امکان تداخل دارند .

شاخصهای اجرایی :

۱) حداقل مقدار قابل اندازه گیری :

بر اساس جذب نوری استاندارد صفر و محاسبات انجام شده Limit of Blank (LOB): 1U/ml و Limit of Detection (LOD):4U/ml می باشد .

۲) دقت آزمایش :

آزمایشهای اینترا–اسی (همخوانی غلظت مشخص از یک نمونه در یک سری آزمایش) و اینتر– اسی (همخوانی غلظت مشخص ازیک نمونه در سری آزمایشات مختلف) با استفاده از ۴ سرم با غلظتهای مختلف CA19-9 انجام گردید که در جداول ۱ و ۲ آمده است :

جدول شماره ۱ (اینترا – اسی) :

نمونه	تعداد دفعات تکرار تست	میانگین U/ml	SD	CV %
۱	۲۰	۲۰/۱	۱/۸	۸/۹
۲	۲۰	۶۳	۵/۱	۸/۱
۳	۲۰	۲۴۴	۱۱/۸	۴/۸
۴	۲۰	۵۴۲	۱۷/۶	۳/۲

جدول شماره ۲ (اینتر – اسی) :

نمونه	تعداد دفعات تکرار تست	میانگین U/ml	SD	CV %
۱	۲۰	۲۵/۲	۱/۷	۶/۷
۲	۲۰	۵۶/۴	۴/۷	۸/۳
۳	۲۰	۲۴۶/۷	۱۳/۷	۵/۵
۴	۲۰	۵۳۰/۲	۱۸/۵	۳/۰

هر سری آزمایش بصورت Duplicate انجام شده است .

تهران، شهرک گلستان، بلوار گلها، خیابان یاس سوم، نبش خیابان یاسمن، پلاک۱، کد پستی ۱۴۹۴۷۳۴۴۶۳
تلفن ۴۲۱۹۷۰۰۰ (خط ویژه) فکس ۴۲۱۹۷۰۰۷
sms 300071402 info@pishtazteb.com www.pishtazteb.com

ویرایش دوم – تیر ۱۴۰۰

۳) ریکاوری آزمایش :

سه نمونه سرم با مقادیر معلومی از CA19-9 به ۵ سرم با غلظتهای مشخص CA19-9 افزوده شد و ریکاوری محاسبه شده آنها عددی بین ۱۰±۱۰۰ درصد را نشان می دهد .

(جهت تست ریکاوری از استاندارد های کیت استفاده نشود) .

نمونه	مقدار CA19-9 موجود در سرم (U/ml)	مقدار CA19-9 افزوده شده (U/ml)	مقدار مورد انتظار (U/ml)	مقدار بدست آمده (U/ml)	ریکاوری (%)
۱	۱۶	۱۰	۱۳	۱۲/۵	۹۶/۱
۱	۱۶	۳۰	۲۳	۲۲	۹۵/۶
۱	۱۶	۷۰	۴۳	۴۱	۹۵/۳
۲	۳۱	۱۰	۲۰/۵	۲۱	۱۰۲/۴
۲	۳۱	۳۰	۳۰/۵	۳۱/۵	۱۰۳/۲
۲	۳۱	۷۰	۵۰/۵	۵۲	۱۰۲/۹
۳	۷۳	۱۰	۴۱/۵	۴۳	۱۰۳/۶
۳	۷۳	۳۰	۵۱/۵	۵۳	۱۰۲/۹
۳	۷۳	۷۰	۷۱/۵	۷۴/۵	۱۰۴/۲
۴	۲۵۰	۱۰	۱۳۰	۱۲۴/۵	۹۵/۷
۴	۲۵۰	۳۰	۱۴۰	۱۲۹	۹۲/۱
۴	۲۵۰	۷۰	۱۶۰	۱۷۵	۱۰۹/۳
۵	۵۸۰	۱۰	۲۹۵	۳۱۰	۱۰۵
۵	۵۸۰	۳۰	۳۰۵	۳۰۰	۹۸/۳
۵	۵۸۰	۷۰	۳۲۵	۳۴۱	۱۰۴/۹

٤) خطی بودن آزمایش :

به کمک استاندارد صفر رقتهای متوالی ۳ نمونه سرم (به صورت چهار رقت متوالی از ۱:۲ تا ۱:۱۶) تهیه گردید و نتایج خطی بودن بر اساس ضریب رقت محاسبه شده عددی بین ۱۰±۱۰۰ درصد را نشان می دهد .

نمونه	مقدار CA19-9 موجود در سرم رقیق نشده (U/ml)	ریکاوری (٪)			
		رقت ۱/۲	رقت ۱/۴	رقت ۱/۸	رقت ۱/۱۶
۱	۲۵۵	٪۹۶	٪۹۱	٪۹۷	٪۱۰۹
۲	۴۰۰	٪۹۵	٪۱۰۸	٪۱۰۰	٪۹۰
۳	۵۳۵	٪۱۰۳	٪۹۴	٪۱۰۹	٪۹۸

تهران، شهرک گلستان، بلوار گلها، خیابان یاس سوم، نبش خیابان یاسمن، پلاک۱، کد پستی ۱۴۹۴۷۳۴۴۶۳
تلفن ۴۲۱۹۷۰۰۰ (خط ویژه) فکس ۴۲۱۹۷۰۰۷
sms 300071402 info@pishtazteb.com www.pishtazteb.com
ویرایش دوم – تیر ۱۴۰۰

۵) اختصاصیت آزمایش :

اختصاصیت این آزمایش به کمک سرمهائی با غلظتهای مشخص از مواد اضافه شده مختلف به آنها ، جهت بررسی واکنشهای متقاطع با CA19-9 بررسی شد که نتایج آن در جدول زیر آمده است :

آنالیت	غلظت	واکنش متقاطع
CA125	**(2300U/ml)**	< 4U/ml
CA15-3	**(1200U/ml)**	< 4 U/ml
AFP	**(850U/ml)**	< 4 U/ml
CEA	**(1300ng/ml)**	< 4 U/ml

۵) تداخل : جهت بررسی تداخل کیت به سه نمونه سرم مقادیر زیر از عوامل مداخله گر هموگلوبین ، تری گلیسرید و بیلی روبین اضافه و تغییرات میزان ارزش نمونه در قبل و بعد از افزودن عوامل مداخله گر محاسبه شد و نتایج جدول زیر بدست آمد .

آنالیت مداخله گر	غلظت آنالیت مداخله گر	ارزش نمونه قبل از افزودن آنالیت مداخله گر (U/ml)	ارزش نمونه بعد از افزودن آنالیت مداخله گر (U/ml)	تفاوت نتایج (٪)
هموگلوبین	1 mg/ml	20.6 53.6 568	20.3 50.8 542	-1.4 -5.2 -4.57
تری گلیسرید	3000 mg/dL	20.6 53.6 568	21 52.1 586.7	1.94 -2.8 3.29
بیلی روبین	mg/dL 20	20.6 53.6 568	20.4 51.7 554	-1 -3.5 -2.46

بر اساس نتایج بدست آمده تداخل ایجاد شده تغییر چشمگیری در نتایج ایجاد نکرد و قابل قبول می باشد .

۵) اثر هوک (Hook Effect) :

آزمایش CA19-9 جهت سرمهائی با غلظت بسیار بالا از این آنالیت (تا U/ml ۶۰۰۰۰) صورت گرفت که پدیده هوک مشاهده نشد .

References :

1) Kim S, Park BK, Seo JH, Choi J, Choi JW, Lee Ch. Carbohydrate antigen 19-9 elevation without evidence of malignant or pancreatobiliary Diseases. Sci Rep. 2020; 10:8820 | https://doi.org/10.1038/s41598-020-65720-8.

2) Scara S, Bottoni P, Scatena R. CA 19-9: Biochemical and Clinical Aspects. Adv Exp Med Biol. 2015; 867: 247-60.

3) Ballehaninna UK, Ronald S Chamberlain.The clinical utility of serum CA 19-9 in the diagnosis, prognosis and management of pancreatic adenocarcinoma: An evidence based appraisal.JGO.2012; 3 (2):105-119.

تهران، شهرک گلستان، بلوار گلها، خیابان یاس سوم، نبش خیابان یاسمن، پلاک۱، کد پستی ۱۴۹۴۷۳۴۴۶۳
تلفن ۴۲۱۹۷۰۰۰ (خط ویژه) فکس ۴۲۱۹۷۰۰۷
sms 300071402 info@pishtazteb.com www.pishtazteb.com

ویرایش دوم – تیر ۱۴۰۰

4) Obiol RM, Martí-Fernandez R, Lopez1 F, Ortega J. Prognostic Value of CEA and CA 19.9 in Gastric Cancer. World. J. Oncol. 2017; 4:1-6.

5) Resovi1 A, Bani1 MR, Porcu L, Anastasia A, Minoli L, Allavena P. Soluble stroma-related biomarkers of pancreatic cancer. EMBO Mol Med. 2018.10: e8741.

6) Attallah AM, El-Far AM, Omran MM. The efficiency of collagen III, metalloproteinase 1, carcinoembryonic antigen, and carbohydrate antigen 19.9 for colon cancer diagnosis. JBAAR. 2019; 5(2): 167 -175.

7) Das S, Kakoti LM, Ahmed Sh, Sarma A, Kataki A. Study of Serum CEA and Ca 19.9 in Esophageal Squamous Carcinoma and ROC Curve Analysis. Asian Pac J Cancer Biol.2020; 5 (4): 141-145.

8) Jia YH, Zheng WW, Ye ZH. Clinical significance of CA 19.9 and LINC01197 in pancreatic cancer. Eur Rev Med Pharmacol Sci.2020; 24:2358-2367.

9) Sefrioui D, Blanchard F, Toure E, Basile P, Beaussire L, Dolfus C. Diagnostic value of CA19.9, circulating tumour DNA and circulating tumour cells in patients with solid pancreatic tumours. BJS. 2017;117: 1017–1025.

10) Xing H, Wang J, Wang Y, Tong M, Hu H, Huang Ch. Diagnostic Value of CA 19-9 and Carcinoembryonic Antigen for Pancreatic Cancer: A Meta-Analysis. Gastroenterol Res Pract.2018; ID 8704751.

روش انجام آزمایش CA19-9 به صورت شماتیک

چاهکهای کوت شده با آنتی بادی ضد CA19-9			
محلول ها	استانداردها	سرم کنترل	نمونه
اسی بافر	۱۰۰میکرولیتر	۱۰۰ میکرولیتر	۱۰۰ میکرولیتر
استانداردها	۲۰ میکرولیتر	–	–
سرم کنترل	–	۲۰ میکرولیتر	–
نمونه	–	–	۲۰ میکرولیتر
پلیت را به ملایمت برای مدت ۱۵ ثانیه تکان دهید تا محتویات چاهکها به خوبی مخلوط شوند و سپس دهانه چاهکها را با برچسب مخصوص پلیت بپوشانید . ۳۰ دقیقه در دمای اتاق انکوبه کنید . برچسب پلیت را برداشته و محتویات چاهکها را خالی کنید . طبق دستور شستشو ۵ بار چاهکها را بشویید .			
آنزیم کونژوگه	۱۰۰ میکرولیتر	۱۰۰ میکرولیتر	۱۰۰ میکرولیتر
دهانه چاهکها را با برچسب مخصوص پلیت بپوشانید . ۳۰ دقیقه در دمای اتاق انکوبه کنید . برچسب پلیت را برداشته و محتویات چاهکها را خالی کنید . طبق دستور شستشو ۵ بار چاهکها را بشویید .			
محلول رنگزا	۱۰۰ میکرولیتر	۱۰۰ میکرولیتر	۱۰۰ میکرولیتر
پلیت را به مدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق و در تاریکی انکوبه کنید .			
محلول متوقف کننده	۱۰۰ میکرولیتر	۱۰۰ میکرولیتر	۱۰۰ میکرولیتر
جذب نوری چاهکها را در طول موج ۴۵۰ نانومتر (ودرصورت امکان ۶۳۰ نانومتر به عنوان فیلتر رفرانس) قرائت کنید .			

تهران، شهرک گلستان، بلوار گلها، خیابان یاس سوم، نبش خیابان یاسمن، پلاک۱، کد پستی ۱۴۹۴۷۳۴۴۶۳
تلفن ۴۲۱۹۷۰۰۰ (خط ویژه) فکس ۴۲۱۹۷۰۰۷
sms 300071402 info@pishtazteb.com www.pishtazteb.com
ویرایش دوم – تیر ۱۴۰۰