

## Reactivos para la Determinación de Cáncer Gastrointestinal

### Solo para diagnóstico In Vitro

Para uso exclusivo en Laboratorios Clínicos o de Gabinetes  
Conservar entre 2°C a 8°C

## NOMBRES COMUNES Y DE PROPIEDAD

Inmunoensayo de la Enzima de Ca-19-9

## USO DESTINADO

Para la determinación cuantitativa de la concentración del antígeno de cáncer gastrointestinal (Ca-19-9) en suero humano.

## INTRODUCCIÓN

Un grupo de mucina tipo Antígenos glicoproteínicos Sialosyl Lewis (SLA), como Ca-19-9 y Ca-19-5, ha llegado a ser reconocidos como el cáncer circulante asociado a los antígenos para el cáncer gastrointestinal.

Ca-19-9 representa el marcador tumoral de hidrato de carbono más importante y básico. La distribución inmunohistológica de Ca-19-9 en los tejidos es consistente, en la determinación cuantitativa y son más altas las concentraciones de Ca-19-9 en el cáncer que en tejidos normales o inflamados. Reportes recientes indican que los niveles de Ca-19-9 en el suero son frecuentemente elevados en el suero de sujetos con varias malignidades gastrointestinales, como pancreáticas, colorectal, carcinomas gástricos y hepáticos. Junto con CEA, las elevaciones de Ca-19-9 son sugestivas de neoplasma de la vesícula, en la escena de las enfermedades inflamatorias de la vesícula. Este tumor asociado al antígeno también puede elevarse en algunas condiciones no-malignas. Estudios de investigación demuestran que los valores del suero Ca-19-9 pueden ser útiles en el monitoreo en sujetos con las malignidades diagnosticadas antes dichas. Esto a mostrado que una persistente elevación en los valores del suero de Ca-19-9 valorado a través del tratamiento que se lleva, puede ser indicativo de una metástasis oculta y/o enfermedad residual. Una creciente persistencia en los valores en el suero de Ca-19-9 puede asociarse con una enfermedad maligna progresiva y de una respuesta terapéutica pobre. Un valor declinante de Ca-19-9 puede ser indicativo de un pronóstico favorable y de una buena respuesta al tratamiento.

## PRINCIPIO DE LA PRUEBA

La prueba de ELISA Ca-19-9 es un inmunoensayo de dos sitios en fase sólida. Un anticuerpo monoclonal está revestido en la superficie de los pocillos de microtitulación y otro anticuerpo monoclonal marcado con peroxidasa de rabano picante es utilizado como trazador. Las moléculas de Ca-19-9 presentes en la solución estándar o suero son "intercalados" entre los dos anticuerpos. Después de la formación del complejo anticuerpo revestido-antígeno-anticuerpo-enzima, los anticuerpos-enzima no unidos son eliminados mediante lavado. La actividad de la peroxidasa de rabano picante unida en los pozos es ensayada por reacciones colorimétricas. La intensidad del color formado es proporcional a la concentración de Ca-19-9 presente en la muestra.

## REACTIVOS

Materiales abastecidos con el equipo de prueba

1. Placa de micropozos cubiertos de anticuerpo Murino Monoclonal Anti-CA-19-9 con 96 pozos
2. Estándares de referencia
3. Búfer de ensayo CA-19-9
4. Reactivo enzima conjugada
5. Reactivo TMB (un paso)
6. Solución de paro (1N HCl)
7. Solución búfer de lavado concentrado

## Materiales requeridos pero no proporcionados:

1. Pipetas y puntas de precisión 40 µL - 200 µL, 1000 µL
2. Agua destilada
3. Mezclador Vórtex
4. Papel absorbente o toalla del papel
5. Papel cuadriculado para graficar
6. Un lector de plato de micropozos con un ancho de banda de 10 nm y un rango de densidad óptica de 0-2 o mayor, con una longitud de onda a 450 nm.

## RECOLECCIÓN Y PREPARACIÓN DEL ESPÉCIMEN

1. La sangre debe extraerse utilizando técnicas de punción venosa convencionales y el suero debe ser separado de las células rojas de la sangre tan pronto como sea posible. Evitar muestras con una fuerte hemólisis, lipémicas o turbias
2. Las muestras de plasma recolectadas en tubos que contienen EDTA, heparina u oxalato puede interferir con los procedimientos de ensayo y deben evitarse.
3. Las muestras deben ser tapadas y pueden ser almacenadas hasta 48 horas a 2-8 °C, antes del ensayo. Las muestras almacenadas durante más tiempo se pueden congelar a -20 °C. Las muestras descongeladas deben mezclarse antes de la prueba.

## ALMACENAMIENTO DEL EQUIPO DE PRUEBA E INSTRUMENTACIÓN

1. Los equipos de prueba sin abrir deben ser almacenados de 2 a 8 °C al ser recibidos y la microplaca debe ser guardada en una bolsa sellada con desecantes para minimizar la exposición a la humedad del aire. El kit de ensayo puede utilizarse hasta la fecha de caducidad del equipo (durante un año desde la fecha de fabricación). Consulte la etiqueta del envase la fecha de caducidad.
2. Los equipos de prueba abiertos permanecerán estables hasta su fecha de caducidad, siempre y cuando sean almacenados como se describió anteriormente.
3. Un lector de placa de MicroElisa con una amplitud de banda de 10 nm o menor y un rango de densidad óptica de 0-2 DO (densidad óptica) o mayor a una longitud de onda de 450 nm es aceptable para su uso en la medición de absorbancia.

## PREPARACIÓN DE REACTIVO

1. Todos los reactivos deben estar a temperatura ambiente (18-22 °C) antes de su uso. Todos los reactivos deben ser mezclados por inversión o de remolino gentilente. No genere espuma.
2. Si los estándares de referencia son liofilizados, reconstituir cada uno con 0.5 mL de agua destilada. Deje en reposo el material reconsti-



"Rápida solución a tus necesidades clínicas"

## Distribuido por:

DIAGNÓSTICA INTERNACIONAL S.A. de C.V.  
Rudyard Kipling 4886 Col. Jardines de la Patria  
CP 45110 Zapopan, Jalisco, México  
Lada sin costo: 01 800 440 0404 c/ 10 líneas  
Tel: 01 (33) 3770 1940 c/ 10 líneas

tuido durante al menos 20 minutos. Los estándares reconstituidos deben ser sellados y almacenados entre 2-8 °C.

3. Diluir un volumen de bufer de lavado concentrado (50x) en 49 volúmenes de agua destilada. Por ejemplo, diluir 15 ml de bufer de lavado concentrado (50x) en 735 ml de agua destilada para preparar 750 ml de bufer de lavado (1x). Mezcle bien antes de su uso.

#### PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

1. Asegure el número deseado de pozos en el soporte. Dispense 50 µL de estándares, muestras, y controles en los pozos apropiados.
2. Agregue 100 µL de Búfer de ensayo CA-19-9 en cada pozo. Mezcle perfectamente por 30 segundos.
3. Incube a 37°C por 60 minutos.
4. Remueva la mezcla de incubación vaciando los contenidos de la placa en un recipiente para desechos. Enjuague y vacíe los micropozos 5 veces con búfer de lavado (1x). Golpee suavemente los pozos sobre el papel absorbente o toallas de papel para remover todas las gotas de agua residuales.
5. Dispense 100µL de reactivo de enzima conjugada de trabajo en cada pozo. Mezcle perfectamente por 30 segundos.
6. Incube a 37 °C por 60 minutos.
7. Al finalizar los 60 minutos de incubación, remueva el contenido y lave los pozos como fue descrito en el paso 4.
8. Dispense 100 µL de Reactivo TMB en cada pozo. Mezcle suavemente por 10 segundos.
9. Incube a temperatura ambiente y en la oscuridad por 20 minutos.
10. Frene la reacción al agregar 100 µL de solución de paro a cada pozo. Mezcle suavemente por 10 segundos. *Es importante asegurarse que el color azul cambie a color amarillo totalmente.*
11. Utilizando un lector de placa de micropozos, lea la densidad óptica a 450 nm dentro de un plazo no mayor a 15 minutos.

#### NOTA IMPORTANTE

1. El procedimiento de lavado es crítico. Un lavado insuficiente producirá una mala precisión y lecturas de absorbancia falsamente elevadas.
2. Se recomienda no procesar más de 32 micropozos por cada corrida de ensayo si se utiliza el pipeteado manual, ya que el pipeteo de todos los estándares, muestras y controles debe ser completado dentro de 5 minutos. Un plato lleno de 96 pocillos puede ser utilizado si el pipeteo automatizado está disponible.
3. El proceso por duplicado de todos los estándares y las muestras, aunque no es obligatorio, se recomienda.

#### CÁLCULO DE LOS RESULTADOS

Calcule el valor de absorbancia media para cada juego de estándares de referencia, controles, y muestras. Elabore una curva estándar al trazar la absorbancia media obtenida para cada estándar de referencia comparada con su concentración en U/mL sobre un papel cuadrícula, con valores de absorbancia sobre el eje Y o vertical y las concentraciones sobre el eje X u horizontal. Utilizando los valores de absorbancia media para cada muestra, determine la concentración correspondiente de CA-19-9 en U/mL desde la curva estándar.

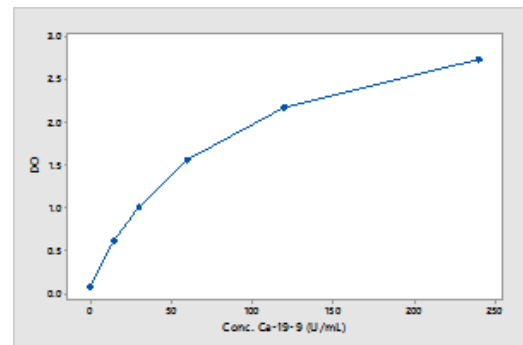
#### VALORES ESPERADOS

Se espera que en hombres y mujeres saludables se obtengan valores por debajo de 35 U/mL. La concentración mínima detectable de Ca-19-9 en esta prueba es estimada en 5 U/mL.

#### EJEMPLO DE CURVA ESTÁNDAR

Resultados de una corrida estándar típica con lecturas de densidad óptica a 450 nm mostradas en el eje Y contra las concentraciones de CA-19-9 mostradas en el eje X. Esta curva estándar es con el propósito de ilustrar solamente, y no debe ser utilizada para hacer cálculos desconocidos. Cada laboratorio debe obtener sus propios datos y curva estándar en cada experimento.

CA-19-9 (U/mL)	Absorbancia (450 nm)
0	0.078
15	0.620
30	1.009
60	1.562
120	2.182
240	2.742



#### REFERENCIAS

1. Glenn, J., Steinberg, W.M., Kurtzman, S.H., et al. Evaluation of the utility of a radioimmunoassay for serum CA 19-9 level in patients before and after treatment of carcinoma of the pancreas. *J. Clin. Oncol.* 1988; 6:462-8.
2. Hayakawa, T., Kondo, T., Shibata, T. et al. Sensitive serum markers for detecting pancreatic cancer. *Cancer* 1988; 61:1827-31.
3. Koprowski, H., Herly, M., Steplewski, Z., et al. Specific antigen in serum of patients with colon carcinoma. *Science* 1981; 212:53-5.
4. Malesci, A., Tommasini, M.A., Bonato, C. et al. Determination of CA19-9 antigen in serum and pancreatic juice for differential diagnosis of pancreatic adenocarcinoma from chronic pancreatitis. *Gastroenterology* 1987; 92:60-7.
5. Safi, F, Roscher, R., Bittner, R., et al. High sensitivity and specificity of CA 19-9 for pancreatic carcinoma in comparison to chronic pancreatitis. *Serological and immunohistochemical findings. Pancreas* 1987; 2:398-403.
6. Steinberg, W. The clinical utility of CA 19-9 tumor associated antigen. *American J. of Gastroenterology* 1990; 85:350-355.
7. Steinberg, W.M., Gelfand, R., Anderson, K.K., et al. Comparison of the sensitivity and specificity of the CA 19-9 and carcinoembryonic antigen assays in detecting cancer of the pancreas. *Gastroenterology* 1986; 90:343-9.
8. Takasaki, H., Uchida, E., Tempero, M.A., et al. Correlative study on expression of CA 19-9 and DU-Pan-2 in tumor tissue and in serum of pancreatic cancer patients. *Cancer Res.* 1988; 48:1435-8.
9. Tatsuta, M., Yamamura, H., Iishi H., et al. Values of CA19-9 in the serum, pure pancreatic juice and aspirated pancreatic material in the diagnosis of malignant pancreatic tumor. *Cancer* 1985; 56:2669-73.
10. Wang, T.H. Lin, J.W., Chen, D.S., et al. Noninvasive diagnosis of advanced pancreatic cancer by real-time ultrasonography, carcinoembryonic antigen, and carbohydrate antigen 19-9. *Pancreas* 1986; 1:219-23.

Diagnóstica  
Internacional



"Rápida solución a tus necesidades clínicas"

FABRICADO POR:

INTERNATIONAL IMMUNO-DIAGNOSTICS  
1155 CHESS DRIVE No. 121  
FOSTER CITY, CA 94404 USA