



# CanAg SCC EIA

REF 800-10

IVD



Instrucciones de uso. 2009-11

EN	EXPLANATION OF SYMBOLS
BG	ОБЯСНЕНИЕ НА СИМВОЛИТЕ
CS	VÝZNAM SYMBOLŮ
DA	SYMBOLFORKLARING
DE	ERKLÄRUNG DER SYMBOLE
EL	ΕΠΕΞΗΓΗΣΗ ΤΩΝ ΣΥΜΒΟΛΩΝ
ES	SIGNIFICADO DE LOS SÍMBOLOS
ET	SÜMBOLITE SELGITUS
FR	EXPLICATION DES SYMBOLES
HR	OBJAŠNJENJE SIMBOLA
HU	JELMAGYARÁZAT
IT	SPIEGAZIONE DEI SIMBOLI
LT	SIMBOLIŲ PAAIŠKINIMAI
LV	SIMBOLU SKAIDROJUMS
NL	VERKLARING DER SYMBOLEN
NO	SYMBOLFORKLARING
PL	OBJAŚNIENIE SYMBOLI
PT	EXPLICAÇÃO DOS SÍMBOLOS
RO	SEMNIIFICAȚIA SIMBOLURILOR
RU	ОБОЗНАЧЕНИЯ
SE	SYMBOLFÖRKLARING
SK	VÝZNAM SYMBOLOV
SL	RAZLAGA SIMBOLOV
SR	OBJAŠNJENJE SIMBOLA
TR	SEMBOLLERİN AÇIKLAMALARI



Use By/Годно до/Použitelné do/  
Holdbar til/Verwendbar bis/  
Ημερομηνία λήξης/Fecha  
de caducidad/Kölblik kuni/  
Utiliser jusque/Rok valjanosti/  
Felhasználható/Utilizzare entro/  
Sunaudoti iki/Izlietot līdz/Houdbaar  
tot/Brukes innen/Użyty przed/  
Prazo de validade/Expiră la/  
Использовать до/Använd före/  
Použite'né do/ Uporabno do/  
Upotrebljivo do/Son Kullanna Tarihi

LOT

Batch code/Номер на партида/  
Číslo šarže/Lotnummer/  
Chargenbezeichnung/Αριθμός  
Παρτίδας/Código de lote/Partii  
kood/Code du lot/Kod serije/  
Sarzszzám/Codice del lotto/  
Partijos kodas/Partijas kods/Lot  
nummer/Partikode/Kod partii/  
Código do lote/Număr de lot/  
Номер лота/Lotnummer/Číslo  
šarže/Številka serije/Kod partije/  
Parti Kodu



Date of manufacture/Дата на производство/Datum výroby/  
Produktionsdato/Herstellungsdatum/  
Ημερομηνία παραγωγής/Fecha de fabricación/Valmistamise kuupäev/  
Date de fabrication/Datum proizvodnje/  
Gyártási idő/Data di produzione/  
Pagaminimo data/Ražošanas datums/  
Productiedatum/Fremstillingsdato/  
Data produkci/Data de fabrico/Data fabricației/Дата производства/  
Tillverkningsdatum/Dátum výroby/Datum izdelave/Datum proizvodnje/Üretim tarihi



In Vitro Diagnostic Medical Device/  
Медицински уред за диагностика  
ин витро/Lékařský přístroj pro diagnostiku in vitro/Medicinsk udstyr til in vitro-diagnostik/In-vitro-Diagnostikum/  
Ιατροτεχνολογικό προϊόν για διάγνωση  
In Vitro/Dispositivo médico para diagnóstico in vitro/In vitro diagnostiline meditsiiniseade/Dispositif médical de diagnostic in vitro/Diagnostički medicinski uređaj In Vitro/In vitro orvosdiagnostikai eszköz/Dispositivo medico per test diagnostici in vitro/In Vitro Diagnostiné Medicinos Priemonė/Medicīniska ierīce in vitro diagnostikai/  
In vitro-diagnostisch medisch instrument/  
In vitro diagnostisk medisinsk utstyr/  
Wyrób medyczny do diagnostyki in vitro/  
Dispositivo Médico de Diagnóstico In Vitro/Dispozitiv medical pentru diagnostic in vitro/Только для диагностики In Vitro/Endast för in vitro-diagnostik/  
Zdravotnícka pomôcka na diagnostiku in vitro/In vitro diagnostični pripomoček/  
Diagnostički medicinski uređaj In Vitro/<96> testleri için yeterlilik içerir



Catalogue number/Каталожен номер/  
Katalogové číslo/Katalognummer/  
Bestellnummer/Αριθμός καταλόγου/  
Número de catálogo/Kataloogi number/  
Numéro de catalogue/Kataloški broj/  
Katalógusszám/Numero di catalogo/  
Katalogo numeris/Numurs katalogā/  
Catalogusnummer/Katalognummer/  
Numer katalogowy/Número do catálogo/  
Număr de catalog/Номер по каталогу/  
Produktnummer/Katalógové číslo/  
Kataloška številka/Kataloški broj/  
Katalog numarası



Temperature limitation/  
Температурни граници/  
Teplotní omezení/  
Temperaturbegrænsning/  
Temperaturbegrenzung/  
Περιορισμοί θερμοκρασίας/  
Limites de temperatura/  
Temperatuuri piirang/  
Limite de température/  
Temperaturno ograničenje/  
Hőmérsékletre vonatkozó korlátozás/  
Limiti di temperatura/  
Temperatūriniai apribojimai/  
Temperatūras ierobežojums/  
Temperatūrbepērkings/  
Temperaturbegrensninger/  
Temperatury graniczne/  
Limite de temperatura/  
Limite de temperatură/  
Температурный режим/  
Temperaturbegrænsning/  
Teplotné obmedzenie  
Omejitve temperature/  
Temperaturno ograničenje/  
Sıcaklık sınırlaması/



Contains sufficient for <96> tests/Συдържа достатъчно количество за тестове <96>/Lze použít pro <96> testů/Ineholder tilstrækkeligt/Inhalt ausreichend für <96> Prüfungen/Περιεχόμενο επαρκές για «96» εξετάσεις/Contenido suficiente para <96> ensayos/Kogusest piisab <96> testi läbiviimiseks/Contenu suffisant pour «96» tests/Sadrži dovoljno za <96> testova/A doboz tartalma <96> vizsgálat elvégzéséhez elegendő/Contenuto sufficiente per «96» saggi/Turinys skirtas atlikti <96> tyrimus/Saturs pietiekams <96> testiem/Inhoud voldoende voor «96» testen/til «96» test/Tilstrekkelig innhold for <96> prøver/Wystarczy na wykonanie <96> testów/Conteúdo suficiente para «96» ensaios/Conținut suficient pentru 96 de teste/Содержит достаточные количества для «96» определений/Innehåller tillräckligt till «96» antal tester/Obsah postačuje na tento počet testov: <96>/Vsebinsa zadostuje za <96> testov/Sadržina dovoljna za <96> testova/<96> testleri için yeterlilik içerir



Consult Instructions for Use/  
 Прочетете инструкцията за  
 употреба/Konzultujte s návodem  
 k použití/Se brugsanvisning/Siehe  
 Gebrauchsanweisung/Συμβουλευτείτε  
 τις Οδηγίες σχετικά με τη χρήση/  
 Consulte las instrucciones de uso/  
 Vt kasutusjuhendit/Consulter le mode  
 d'emploi/Pročítajte upute za uporabu/  
 Olvassa el a használati utasítást/  
 Consultare le istruzioni per l'uso/Dël  
 naudojimo žiūrėkite instrukcijas/Izlasiet  
 lietošanas instrukciju/Raadpleeg de  
 instructies voor gebruik/Les instruksene  
 før bruk/Sprawdzić w instrukcji użycia/  
 Consulte as Instruções de Utilização/  
 Consultați instrucțiunile de utilizare/  
 Обратитесь к инструкции по  
 применению/Se bruksanvisning/  
 Prečítajte si návod na používanie/  
 Pročítajte uputstvo za upotrebu/  
 Kullanım Talimatlarına Bakınız

## CONT

Contents of kit/Съдържание на набора/  
 Obsah sady/Kittets indhold/Inhalt des  
 Kits/Περιεχόμενα του κιτ/Contenido  
 del kit/Komplekt sisaldab/Contenu du  
 kit/Sadržaj opreme/A készlet tartalma/  
 Contenuto del kit/Rinkinio turinys/  
 Komplekta saturs/Inhoud van de set/  
 Settets innhold/Zawartość zestawu/  
 Conteúdo do kit/Conținutul setului/  
 Компоненты набора/Kit innehåll/  
 Obsah súpravy/Vsebina kompleta/Sadržaj  
 opreme/Kitin içindekiler



Biological risks/Биологическа  
 опасност/Biologická rizika/Biologisk  
 fare/Biologische Gefahren/Βιολογικοί  
 κίνδυνοι/Riesgos biológicos/  
 Bioloogilised ohud/Risques biologiques/  
 Biološkli rizici/Biológiai kockázatok/Rischi  
 biologici/Biologinis pavojus/Bioloģiskais  
 risks/Biologische risico's/Biologiske  
 risikoer/Zagrozenie biologiczne/Riscos  
 biológicos/ Biologisk risk/Pericole  
 biologice/Биологическая опасность/  
 Biologicky rizikové/Biologické riziká/  
 Biološkli rizici/Biyolojik riskler

## ORIG HUM

Human/С човешки произход/Lidské/  
 Humant/Human/δείγματα αναφοράς/  
 Humano/Inimpăritolu/Humaine/Ljudskog  
 porjekla/Humán/Origine Umana/  
 Žmogaus kilmės/Cilvēku izcelsmes/  
 Human/Menneske/Ludzka/Humano/  
 Origine umaná/Человеческого  
 происхождения/Human/Ludské/  
 Humanega izvora/Ljudskog porekla/İnsan

## ORIG MOU

From mouse/С миши произход/Мыši/  
 Fra mus/der Maus/από ποντίκι/de ratón/  
 Hiirtelt/De souris/Mišijeg porjekla/  
 Egérbóli/Murino/Pelés kilmės/No peles/  
 Van muizen/Fra mus/Mysia/Do rato/De  
 la șoareci/Мышиного происхождения/  
 Från mus/Myšie/Mišjega izvora/Mišijeg  
 porekla/Fareden

## ORIG BOV

Bovine/С говежди произход/  
 Hovězí/Bovin/Rind/από βοοειδή/  
 Bovino/Veistelt/Bovine/Rogate stoke/  
 Szarvasmarha/Bovino/Jaučio/No  
 liellopa/Bovien/Bovin/Wołowy/Bovino/  
 Origine bovină/крупного рогатого  
 скота/Från ko/Hovädzie/Govejega  
 izvora/Rogate krupne stoke/Bovin



Reconstitute with/Разтваряне с/  
 Rozřed'te pomocí/Rekonstitueres med/  
 Rekonstituieren mit/Ανασύσταση με/  
 Reconstituir con/Lahjendamine/  
 Reconstituer avec/Rekonstituiraite s/  
 Feloldáshoz/Ricostituire con/LT/Atšķaidīt  
 ar/Reconstitutie met/Rekonstitueres  
 med/Odtworzyć za pomocą/Reconstituir  
 com/A se reconstitui cu/Растворить в/  
 Rekonstituera med/Rozried'te pomocou/  
 Rekonstituiraite z/s/Ponovno formiranje  
 sa/Yeniden oluřturulur



Manufacturer/Производитель/Výrobce/  
 Producent/Hersteller/Κτασκευαστής/  
 Fabricante/Tootja/Fabricant/Proizvođač/  
 Gyártó/Fabbricante/Gamintojas/  
 Ražotājs/Fabrikant/Produsent/  
 Producent/Fabricante/Producător/  
 Производитель/Тilverkare/ Výrobca/  
 Izdelovalec/Proizvođač/Üretici

# CanAg SCC EIA

Instrucciones de uso

Kit de ensayo inmunométrico enzimático

Para 96 determinaciones

## INFORMACIÓN IMPORTANTE PARA EL USUARIO

El antígeno SCC está presente en la piel, el sudor y la saliva y se distribuye fácilmente en forma atomizada (p. ej., al estornudar). Para evitar valores falsamente elevados debido a contaminación, deben usarse guantes después de abrir la caja del kit y durante todo el procedimiento de prueba cuando se manipulan viales de reactivos, microplacas, puntas de pipeta, etc. Además, todos los valores elevados deben confirmarse repitiendo la prueba.

## USO PREVISTO

El kit CanAg SCC EIA está pensado para la determinación cuantitativa del antígeno del carcinoma epidermoide (SCC) en suero, como ayuda en la asistencia a pacientes con carcinoma epidermoide.

## RESUMEN Y EXPLICACIÓN DEL ENSAYO

El antígeno del carcinoma epidermoide (Ag SCC) es un grupo de glucoproteínas con un peso molecular de aprox. 45 kDa, pertenecientes a la familia de los inhibidores de la serina/cisteína proteasa (1). La proteína fue aislada originalmente por Kato y colaboradores a partir de tejido del carcinoma epidermoide humano y se demostró que consistía en al menos 10 subfracciones que diferían en el punto isoeléctrico (2). Estudios más recientes han demostrado que el Ag SCC se compone de dos productos génicos diferenciados pero muy homólogos, el SCCA1 y el SCCA2, con diferentes especificidades como inhibidores (3).

El Ag SCC es un marcador serológico de los carcinomas epidermoides de cuello uterino, vulva, pulmón, cabeza y cuello y esófago (4-6). En el carcinoma epidermoide del cuello uterino, puede usarse el Ag SCC sérico pretratamiento como un factor pronóstico en estadios precoces (7), y se ha sugerido el uso de Ag SCC pretratamiento para seleccionar a las pacientes de alto riesgo a fin de que reciban tratamiento adyuvante (4). Además, en pacientes con niveles elevados de Ag SCC antes del comienzo del tratamiento, el perfil del Ag SCC se correlaciona con la respuesta a la radioterapia y la quimioterapia, y su medición, por tanto, podría emplearse para controlar el efecto del tratamiento y para la detección precoz de las recidivas de la enfermedad (4).

## PRINCIPIO DE LA PRUEBA

El CanAg SCC EIA es un inmunoensayo en fase sólida, no competitivo, basado en la técnica de *sandwich* directa. Se incuban juntos los calibradores y las muestras del paciente junto con el anticuerpo monoclonal anti-SCC biotinilado y el anticuerpo monoclonal anti-SCC marcado con peroxidasa de rábano picante (HRP) en microtiras revestidas con estreptavidina. Después del lavado, se añade reactivo tamponado sustrato/cromógeno (peróxido de hidrógeno y 3,3',5,5'-tetrametilbenzidina) a cada pocillo y se deja que se produzca la reacción enzimática. Durante la reacción enzimática, se desarrollará un color azul si hay antígeno presente. La intensidad del color es proporcional a la cantidad de SCC presente en las muestras. Dicha intensidad se determina en un espectrofotómetro de microplacas a 620 nm (o bien a 405 nm después de la adición de solución de parada). Se construyen curvas de calibración para cada ensayo representando el valor de absorbancia frente a la concentración de cada calibrador. Luego se leen las concentraciones de SCC de las muestras de los pacientes a partir de la curva de calibración.

## REACTIVOS

- Cada kit CanAg SCC EIA contiene reactivos para 96 determinaciones.
- La fecha de caducidad del kit viene indicada en la etiqueta de la parte externa de la caja.
- No use el kit después de la fecha de caducidad.
- No mezcle reactivos de diferentes lotes de kits.
- Conserve el kit a una temperatura de 2 °C a 8 °C. No lo congele.
- La estabilidad de los reactivos abiertos se resume en la tabla siguiente, siempre que no estén contaminados, que se conserven en los recipientes originales nuevamente cerrados y que se manipulen como se indica. Vuelva a dejarlos a una temperatura de 2 °C a 8 °C inmediatamente después de su uso.

Componente	Cantidad	Conservación y estabilidad después de la primera apertura
------------	----------	---

### MICROPLA

<b>Microplaca de estreptavidina</b>	1 placa	2-8°C hasta la fecha de caducidad indicada en la placa
-------------------------------------	---------	--

12 x 8 pocillos separables individualmente recubiertos con estreptavidina. Después de abrir el envase, devuelva inmediatamente las tiras no utilizadas a la bolsa de aluminio con desecante. Vuelva a cerrarla cuidadosamente para mantenerlos secos.

<b>Calibradores de SCC</b>	5 viales liofilizados	4 semanas a 2-8 °C 3 meses a -20 °C			
<table border="1"><tr><td>CAL</td><td>SCC</td><td>A</td></tr></table>	CAL	SCC	A		1 x 0,75 ml
CAL	SCC	A			
<table border="1"><tr><td>CAL</td><td>SCC</td><td>B</td></tr></table>	CAL	SCC	B		1 x 0,75 ml
CAL	SCC	B			
<table border="1"><tr><td>CAL</td><td>SCC</td><td>C</td></tr></table>	CAL	SCC	C		1 x 0,75 ml
CAL	SCC	C			
<table border="1"><tr><td>CAL</td><td>SCC</td><td>D</td></tr></table>	CAL	SCC	D		1 x 0,75 ml
CAL	SCC	D			
<table border="1"><tr><td>CAL</td><td>SCC</td><td>E</td></tr></table>	CAL	SCC	E		1 x 0,75 ml
CAL	SCC	E			

Los calibradores liofilizados contienen SCC humano en una solución salina tamponada con Tris-HCl que contiene albúmina sérica bovina, excipiente, un colorante amarillo inerte y metilisotiazolona (MIT) al 0,01% como conservante. Para reconstituir con agua antes de su uso. **NOTA:** La concentración exacta de SCC es específica del lote y se indica en la etiqueta de cada vial.

### BIOTIN Anti-SCC

<b>Biotina anti-SCC</b>	1 x 15 ml	2-8°C hasta la fecha de caducidad indicada en el vial
-------------------------	-----------	---

Anticuerpo monoclonal anti-SCC biotinilado, de ratón, aproximadamente 1 µg/ml. Contiene solución salina tamponada con fosfato (pH 7,2), albúmina sérica bovina, inmunoglobulina bovina, agentes bloqueantes, detergente, un colorante azul inerte y metilisotiazolona (MIT) al 0,01% como conservante. Para mezclar con trazador, HRP anti-SCC, antes de su uso.

### CONJ Anti-SCC

<b>Trazador, HRP anti-SCC</b>	1 x 0,75 ml	2-8°C hasta la fecha de caducidad indicada en el vial
-------------------------------	-------------	---

Solución de reserva de anticuerpo monoclonal anti-SCC marcado con HRP, de ratón, aproximadamente 40 µg/ml. Contiene conservantes. Para mezclar con biotina anti-SCC antes de su uso.

Componente	Cantidad	Conservación y estabilidad después de la primera apertura
------------	----------	---

SUBS	TMB
------	-----

<b>TMB HRP-sustrato</b>	1 x 12 ml	2-8°C hasta la fecha de caducidad indicada en el vial
-------------------------	-----------	---

Contiene peróxido de hidrógeno tamponado y 3,3',5,5'-tetrametilbenzidina (TMB). Listo para su uso.

STOP
------

<b>Solución de PARADA</b>	1 x 15 ml	2-8°C hasta la fecha de caducidad indicada en el vial
---------------------------	-----------	---

Contiene ácido clorhídrico 0,12 M. Lista para su uso.

WASHBUF	25X
---------	-----

<b>Concentrado de lavado</b>	1 x 50 ml	2-8°C hasta la fecha de caducidad indicada en el frasco
------------------------------	-----------	---

Una solución salina tamponada con Tris-HCl, con Tween 20. Contiene Germall II como conservante. Para diluir con agua 25 veces antes de usar.

### Indicaciones de inestabilidad

La solución TMB HRP-sustrato debe ser incolora o ligeramente azulada. Un color azul indica que el reactivo se ha contaminado y debe desecharse.

### ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

#### Para uso diagnóstico in vitro.

- Sólo para uso profesional.
- Consulte la publicación N.º (CDC) 88-8395 del *Department of Health and Human Services* de EEUU (Bethesda, Md., EEUU), relativa a la seguridad en el laboratorio, o cualquier otra norma local o nacional.
- Manipule todas las muestras de pacientes como potencialmente infecciosas.
- Siga las directrices locales para la eliminación de todos los materiales de desecho.

### RECOGIDA Y PREPARACIÓN DE MUESTRAS

El kit CanAg SCC EIA está pensado para usarse con suero. Recoja la sangre mediante venopunción y separe el suero según los procedimientos habituales. Las muestras se pueden conservar entre 2 °C y 8 °C durante 1 día. Para períodos más largos, se recomienda conservar las muestras a -70 °C o menos. Evite la congelación y descongelación repetida de las muestras. Deje que las muestras congeladas se descongelen lentamente, preferiblemente entre 2 °C y 8 °C durante una noche, y lleve las muestras a temperatura ambiente antes del análisis.

### PROCEDIMIENTO

#### Materiales necesarios pero no suministrados con el kit

- 1. Agitador de microplacas**  
La agitación debe ser de media a vigorosa. Agitación longitudinal de aproximadamente 200 golpes/min; 700-900 oscilaciones/min.
- 2. Lavadora de microplacas**  
La lavadora automática de placas debe ser capaz de realizar 1 y 6 ciclos de lavado con un volumen de llenado mínimo de 350 µL por pocillo y ciclo de lavado.  
Se recomienda el lavador manual de tiras Nunc Immuno-8, si no se utiliza una lavadora automática de microplacas.
- 3. Espectrofotómetro de microplacas**  
Con una longitud de onda de 620 nm y/o 405 nm y un rango de absorbancia de 0 a 3,0.

#### 4. Pipetas de precisión

Con puntas de plástico desechables para administrar volúmenes de microlitros y mililitros. Una pipeta de 8 canales o una pipeta dispensadora con puntas de plástico desechables para la administración de 100 µl son útiles, pero no esenciales.

#### 5. Agua destilada o desionizada

Para la reconstitución de los calibradores de SCC y para la elaboración de la solución de lavado.

#### Notas del procedimiento

1. Es necesaria una comprensión plena de este prospecto para usar adecuadamente el kit CanAg SCC EIA. Los reactivos suministrados con el kit están pensados para su uso como una unidad integral. No mezcle reactivos idénticos de kits con números de lote diferentes. No use los reactivos del kit después de la fecha de caducidad impresa en la parte exterior de la caja.
2. Debe dejarse que los reactivos alcancen temperatura ambiente (20 °C a 25 °C) antes de su uso. El ensayo sólo debe realizarse a temperaturas de entre 20 °C y 25 °C para obtener resultados exactos. Las muestras congeladas deben llevarse a temperatura ambiente lentamente y deben mezclarse suave pero concienzudamente después de la descongelación.
3. Antes de comenzar a pipetear los calibradores, los controles y las muestras de los pacientes, es aconsejable marcar las tiras para poder identificar claramente las muestras durante y después del ensayo.
4. El requisito de un lavado eficaz y profundo para la separación del antígeno unido y no unido y los reactivos de los complejos anticuerpo-antígeno unidos a la fase sólida es uno de los pasos más importantes en un EIA. A fin de garantizar un lavado eficaz, compruebe que todos los pocillos estén totalmente llenos con solución de lavado hasta el borde superior durante cada ciclo de lavado, que la solución de lavado se administre con una velocidad de dispensación adecuada, que la aspiración de los pocillos entre y después de los ciclos de lavado sea completa y que los pocillos estén vacíos. Si queda líquido en los pocillos, invierta la placa y dele golpes suaves contra papel absorbente.  
- Lavadora automática de tiras: Siga las instrucciones del fabricante para efectuar una limpieza y el mantenimiento adecuados y realice el número necesario de ciclos de lavado antes y después de cada paso de la incubación. Es muy recomendable usar el modo de procesamiento strip (tira) y el modo de lavado overflow (desbordamiento) con un volumen de administración de 800 µL. El dispositivo de aspiración/lavado no debe dejarse de pie con la solución de lavado durante períodos prolongados, ya que las agujas podrían obstruirse, lo que provocaría una mala dispensación y aspiración del líquido.
5. La solución TMB HRP-sustrato es muy sensible a la contaminación. Para una estabilidad óptima de la solución TMB HRP-sustrato, vierta la cantidad necesaria desde el vial a un reservorio cuidadosamente limpiado, o preferiblemente una bandeja de plástico desechable, para evitar la contaminación del reactivo. Utilice siempre puntas de pipeta de plástico desechables limpias (o puntas de pipeta dispensadora).
6. Utilice siempre puntas de pipeta de plástico desechables limpias, así como una técnica de pipeteado adecuada, al manipular muestras y reactivos. Evite la contaminación sujetando la punta de la pipeta ligeramente por encima de la parte superior del pocillo y evitando tocar la tira de plástico o la superficie del líquido. Una técnica de pipeteado adecuada tiene una importancia especial al manipular la solución TMB HRP-sustrato.

---

<b>Preparación de los reactivos</b>	<b>Estabilidad del reactivo preparado</b>
<b>Calibradores de SCC</b>	4 semanas a 2-8°C 3 meses a -20°C o menos

Añada exactamente 0,75 ml de agua destilada a cada vial y mezcle suavemente. Deje reposar al menos 15 minutos para que se reconstituya. NOTA: La concentración de los calibradores se indica en las etiquetas y debe usarse para el cálculo de los resultados.

---

<b>Solución de lavado</b>	2 semanas a 2-25°C en un recipiente cerrado
---------------------------	---

Vierta los 50 ml del concentrado de lavado en un recipiente limpio y diluya 25 veces añadiendo 1.200 ml de agua destilada o desionizada para conseguir una solución de lavado tamponada.

<b>Preparación de los reactivos</b>	<b>Estabilidad del reactivo preparado</b>
<b>Solución de anticuerpo</b>	3 semanas a 2-8°C

Prepare la cantidad necesaria de solución de anticuerpo mezclando 50 µl de trazador, HRP anti-SCC, con 1 ml de biotina anti-SCC por tira (véase la tabla siguiente y la hoja de protocolo).

N.º de Tiras	Trazador, HRP Anti-SCC (µl)	Biotina Anti-SCC (ml)
1	50	1
2	100	2
3	150	3
4	200	4
5	250	5
6	300	6
7	350	7
8	400	8
9	450	9
10	500	10
11	550	11
12	600	12

Asegúrese de usar un frasco limpio de plástico o vidrio para preparar la solución de anticuerpo.

**Alternativa:** Vierta el contenido del trazador, HRP anti-SCC, en el vial de biotina anti-SCC y mezcle suavemente. Compruebe que todo el trazador, HRP anti-SCC, se transfiere al vial de biotina anti-SCC.

**NOTA:** La solución de anticuerpo es estable durante 3 semanas a temperatura de 2 °C a 8 °C. No prepare más solución de anticuerpos que la que se usará en este período y compruebe que se conserva adecuadamente.

## PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

Realice cada determinación por duplicado para los calibradores, los controles y las muestras de los pacientes. Debe realizarse una curva de calibración con cada ensayo. Todos los reactivos y muestras deben llevarse a temperatura ambiente (20 °C a 25 °C) antes de su uso.

1. Comience a preparar los calibradores de SCC, la solución de lavado y la solución de anticuerpo. Es importante usar recipientes limpios. Siga las instrucciones cuidadosamente.
2. Transfiera el número necesario de tiras de microplacas a un marco de tiras. (Devuelva inmediatamente las tiras no utilizadas a la bolsa de aluminio con desecante y vuelva a cerrarla cuidadosamente). Lave cada tira una vez con la solución de lavado. No lave más tiras de las que puedan manejarse en 30 minutos.
3. Pipetee 25 µl de los calibradores de SCC (CAL A, B, C, D, E) y las muestras de pacientes (desconocidos-Desc) en los pocillos de tiras, de acuerdo con el esquema siguiente:

	1	2	3	4	5	6	7, etc.
A	Cal A	Cal E					
B	Cal A	Cal E					
C	Cal B	Desc1					
D	Cal B	Desc1					
E	Cal C	Desc2					
F	Cal C	Desc2					
G	Cal D	Etc.					
H	Cal D						

4. Añada 100 µl de solución de anticuerpo a cada pocillo, usando una pipeta de precisión de 100 µl (o una pipeta de precisión de 100 µl de 8 canales). Evite la contaminación sujetando la punta de la pipeta ligeramente por encima de la parte superior del pocillo y evitando tocar la tira de plástico o la superficie del líquido.
5. Incube el marco con las tiras durante 1 hora ( $\pm$  5 min) a temperatura ambiente (20 °C a 25 °C), con agitación constante de la placa usando un agitador de microplacas.
6. Lave cada tira 6 veces, usando el procedimiento de lavado descrito en las Notas del procedimiento, punto 4.
7. Añada 100 µl de TMB HRP-sustrato a cada pocillo usando el mismo procedimiento de pipeteado que en el punto 4. La solución TMB HRP-sustrato debe añadirse a los pocillos lo más rápidamente posible, y el tiempo entre la adición al primer y al último pocillo no debe superar los 5 min.
8. Incube durante 30 min ( $\pm$  5 min) a temperatura ambiente, con agitación constante. Evite la luz directa del sol.
9. Lea inmediatamente la absorbancia a 620 nm en un espectrofotómetro de microplacas.

### Opciones

Si el laboratorio no tiene acceso a un espectrofotómetro de microplacas capaz de leer a 620 nm, la absorbancia puede determinarse como sigue:

- Alt. 9.** Añada 100 µl de solución de parada. Mezcle y lea la absorbancia a 405 nm en un espectrofotómetro de microplacas dentro de los 15 minutos siguientes a la adición de la solución de parada.

### Rango de medición

El kit CanAg SCC EIA mide concentraciones de entre 0,3 µg/l y 50 µg/l. Si se van a esperar concentraciones de SCC por encima del rango de medición, se recomienda diluir las muestras con suero humano normal antes del análisis. **NOTA:** El suero empleado para la dilución debe medirse también para determinar la concentración de SCC endógeno (véase "Cálculo de los resultados").

### Control de calidad

Se recomiendan los niveles 1 y 2 (disponibles por separado, [REF](#) 107-20) de CanChek Tumor Marker Control Sera, para la validación de la serie de ensayos. Si se obtienen valores por encima del rango especificado, debe realizarse una comprobación completa de los reactivos y el rendimiento del lector y deben repetirse el análisis.

### Material de referencia

Como no se dispone de material de referencia común para el antígeno SCC, los valores de calibrador de SCC de CanAg se asignan frente a una serie de estándares de referencia internos.

## CÁLCULO DE LOS RESULTADOS

Si se usa un lector de espectrofotómetro de microplacas con programa de cálculo incorporado, consulte el manual del lector de placas y cree un programa usando la concentración indicada en las etiquetas de cada uno de los calibradores de SCC.

Para el cálculo automático de los resultados de SCC, se recomienda usar cualquiera de los métodos siguientes:

Método de ajuste de la curva spline cúbica. El calibrador 0 debe estar incluido en la curva con el valor 0 µg/l.

Método de ajuste de la curva spline suavizada. El calibrador 0 debe usarse como blanco de la placa.

Interpolación con evaluación punto a punto. El calibrador 0 debe estar incluido en la curva con el valor 0 µg/l.

Método de ajuste de la curva cuadrática. El calibrador 0 debe estar incluido en la curva con el valor 0 µg/l.

**NOTA:** No debe usarse una regresión lineal o paramétrica de grado 4.

Para la evaluación manual, se construye una curva de calibración representando los valores de absorbancia (A) para cada calibrador de SCC frente a la concentración de SCC correspondiente (en µg/l) (véase la figura más abajo). Las concentraciones de SCC desconocidas pueden leerse después a partir de la curva de calibración usando el valor de absorbancia medio de cada muestra de paciente.

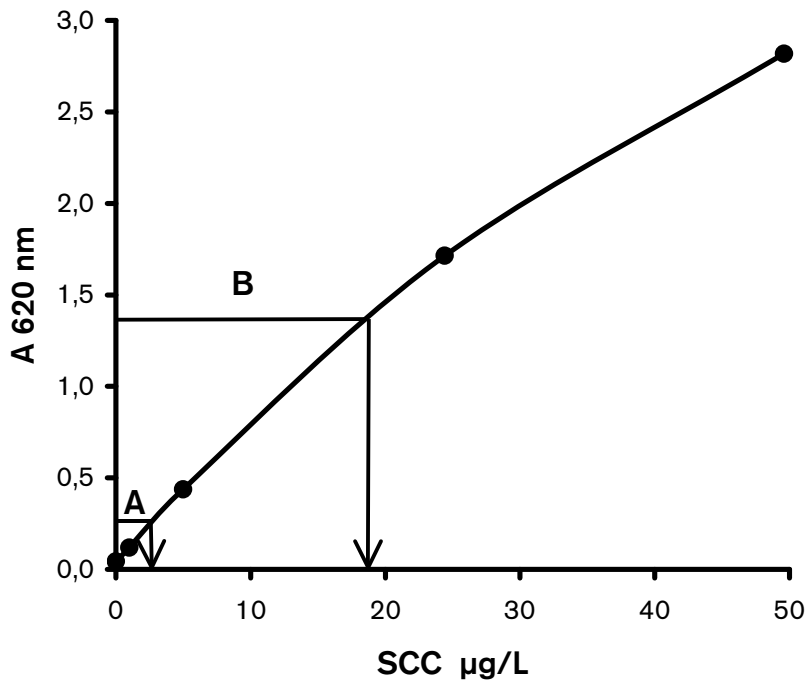
Si las muestras en un análisis inicial dan valores de SCC mayores de 50 µg/l, deben diluirse 1/10 con suero humano normal y reanalizarse para obtener la concentración exacta de SCC. **NOTA:** La muestra empleada para la dilución debe medirse también para determinar la concentración de SCC endógeno.

La concentración de SCC de la muestra no diluida se calcula de la siguiente manera:

$$\text{Dilución 1/10: } 10 \times ([\text{SCC}]_{\text{Muestra diluida}} - (0,9 \times [\text{SCC}]_{\text{Suero normal}}))$$

### Ejemplo de resultados

Muestra	Valores de calibrador	Valores de absor-bancia media (A)	SCC µg/l
Calibrador A	0 µg/l	0,043	
Calibrador B	1 µg/l	0,119	
Calibrador C	5 µg/l	0,437	
Calibrador D	24 µg/l	1,715	
Calibrador E	50 µg/l	2,818	
Muestra A		0,245	2,6
Muestra B		1,363	18,3



Ejemplo (no use esta curva o la tabla anterior para determinar los resultados reales del ensayo).

## LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

El Ag SCC está presente en epitelios escamosos normales, y puede encontrarse SCC elevado en trastornos de la piel que cursen con hiperqueratinización; p. ej. psoriasis y eccema. Se producen también niveles elevados en trastornos benignos, como la enfermedad inflamatoria pulmonar y la insuficiencia hepática o renal (4,9).

Por tanto, el nivel de SCC no puede usarse como prueba absoluta de la presencia o ausencia de enfermedades malignas, y no debe utilizarse la prueba de SCC en el cribado del cáncer. Los resultados de la prueba sólo deben interpretarse conjuntamente con los resultados de otras investigaciones y procedimientos en el diagnóstico de las enfermedades y la asistencia a los pacientes, y la prueba de SCC no debe sustituir a ninguna exploración clínica establecida.

El Ag SCC está presente en la piel, el sudor y la saliva y se distribuye fácilmente en forma atomizada (p. ej., al estornudar). Para evitar valores falsamente elevados debido a contaminación, deben usarse guantes durante todo el procedimiento de prueba cuando se manipulan viales de reactivos, microplacas, puntas de pipetas, etc. Además, todos los valores elevados deben confirmarse repitiendo la prueba. Los anticuerpos anti-reactivo (anticuerpos humanos anti-ratón (HAMA) o anticuerpos heterófilos) en la muestra del paciente pueden interferir ocasionalmente con el ensayo, aunque se incluyen agentes bloqueantes específicos en el tampón.

## VALORES ESPERADOS

Se usó el kit CanAg SCC EIA para medir el antígeno SCC en 175 donantes de sangre sanos. Se examinaron los extremos inferior y superior del rango normal aplicando el tratamiento estadístico no paramétrico recomendado por el IFCC. El intervalo de referencia contiene la fracción del 95% central de la distribución de referencia. El límite de referencia superior se estimó en consecuencia como el fractil superior del 97,5%.

	Media (µg/l)	De (µg/l)	Mediana (µg/l)	Rango (µg/l)	Límite de referencia superior
Donantes de sangre sanos N=175	0,58	0,24	0,54	0,16 – 1,5	1,2 µg/l

Se recomienda que cada laboratorio establezca su propio rango normal para tener en cuenta factores ambientales locales tales como la dieta, el clima, las condiciones de vida, la selección de pacientes, etc. Debe tenerse en cuenta también que los propios resultados basales del paciente aportan el punto de referencia más importante para la interpretación de los resultados de los marcadores.

## CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

### Precisión

La precisión total se calculó según la directriz EP5-A del NCCLS (10) usando 4 niveles de suero humano agrupado congelado que contenía antígeno SCC humano añadido y 18 combinaciones de reactivos diferentes del kit CanAg SCC EIA. Cada muestra se pipeteó aleatoriamente (n = 2/análisis) y se analizó dos veces cada día durante 20 días.

Muestra	Duplicados	Media (µg/l)	De intraprueba (µg/l)	CV intraprueba (%)	De entre días (µg/l)	CV entre días (%)
SCC 1	80	2,62	0,05	1,9	0,04	1,3
SCC 2	80	7,77	0,16	2,0	0,15	1,9
SCC 3	80	17,7	0,34	1,9	0,20	1,1
SCC 4	80	30,2	0,71	2,4	0,38	1,3

### Límite de detección

El límite de detección del kit CanAg SCC EIA es  $\leq 0,3 \mu\text{g/l}$ , definido como la concentración correspondiente a la media de los valores de absorbancia del calibrador A de SCC más 2 desviaciones estándar, según la fórmula:

$$\frac{2 \times \text{SD CAL A}}{\text{OD CAL B} - \text{OD CAL A}} \times [\text{CAL B}] \mu\text{g/L}$$

## Recuperación

Se prepararon muestras de suero enriquecidas añadiendo antígeno SCC humano a muestras de suero normales. La recuperación del antígeno añadido estuvo en el rango del 90% al 110%.

## Efecto de gancho:

No se ha observado efecto de gancho con muestras de hasta 50.000 µg/l. **NOTA:** En muestras muy altas, el color del sustrato cambiará de azul a verdoso (y finalmente a amarillo en muestras extremadamente altas). Esto conducirá a una absorbancia falsamente baja a 620 nm y, en casos extremos, la absorbancia puede caer dentro del rango de la curva de calibración y observarse como un gancho.

## Linealidad

Se diluyeron de forma seriada las muestras de los pacientes con suero humano normal y se analizaron. Los valores obtenidos estuvieron dentro del 90% al 110 % de los valores esperados.

## Especificidad

El kit CanAg SCC EIA se basa en dos anticuerpos monoclonales de ratón, el de sujeción MAb SCC 140 y el detector MAb SCC 107 (11). Se siguió la directriz EP7-P del NCCLS (12) para determinar posibles fuentes de interferencia. Se estudiaron las siguientes sustancias y concentraciones y se observó que no interfieren con la prueba.

	Concentración sin interferencia significativa (± 10%)
Lipemia (Intralipid®)	10 mg/ml
Bilirrubina no conjugada	0,6 mg/ml
Hemoglobina	5 mg/ml

## Comparación de métodos

Se comparó el kit CanAg SCC EIA con el Imx SCC MEIA.

En 72 muestras humanas que oscilaban entre valores de 0 µg/l a 4 µg/l, los análisis de regresión lineal de los resultados dieron:

$$\text{CanAg SCC} = 1,02 \times \text{Imx SCC} + 0,03 \quad r = 0,86$$

En 138 muestras humanas que oscilaban entre valores de 0 µg/l a 50 µg/l, los análisis de regresión lineal de los resultados dieron:

$$\text{CanAg SCC} = 0,82 \times \text{Imx SCC} + 0,06 \quad r = 0,98$$

## GARANTÍA

Los datos de rendimiento aquí presentados se obtuvieron usando el procedimiento de ensayo indicado. Cualquier cambio o modificación del procedimiento no recomendado por Fujirebio Diagnostics puede afectar a los resultados, en cuyo caso, Fujirebio Diagnostics rechaza todas las garantías expresas, implícitas u obligatorias, incluida la garantía implícita de comerciabilidad e idoneidad para el uso.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Suminami Y., Kishi F., Sekiguchi K., Kato H. (1991) Squamous cell carcinoma antigen is a new member of the serine protease inhibitors. *Biochem Biophys Res Commun* 181, 51-58.
2. Kato H. and Torigoe T. (1977) Radioimmunoassay for tumor antigen of human cervical squamous cell carcinoma. *Cancer* 40, 1621-1628.
3. Schneider S.S., Schick C., Fish K.E., Miller E., Pena J.C., Treter S.D., Hui S.M., Silverman G.A. (1995) A serine protease inhibitor locus at 18q21.3 contains a tandem duplication of the human squamous cell carcinoma antigen gene. *Proc Natl Acad Sci USA*, 92, 3147-3151.
4. de Bruijn H.W.A., Duk J.M., van der Zee A.G.J., Pras E., Willemse P.H.B., Boonstra H., Hollema H., Mourits M.J.E., de Vries E.G.E., Aalders J.G. (1998) The Clinical Value of Squamous cell Carcinoma Antigen in Cancer of the Uterine Cervix. *Tumor Biol* 19, 505-516.
5. Vassiliakopoulos T., Troupis T., Sotiropoulou C., Zacharatos P., Katsaounou P., Parthenis D., Noussia O., Troupis G., Papiris S., Kittas C., Roussos C., Zakynthinos S., Gorgoulis V. (2001) Diagnostic and prognostic significance of squamous cell carcinoma antigen in non-small cell lung cancer *Lung Cancer* 32, 137-144.
6. Snyderman C.H., Dámico F., Wagner R., Eibling D.E. (1995) A Reappraisal of the Squamous Cell Carcinoma Antigen as a Tumor Marker in Head and Neck Cancer. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 121, 1294-1297.
7. Duk J.M., Groenier K.H., de Bruijn H.W.A., Hollema H., ten Hoor K.A., van der Zee A.G.J., Aalders J.G. (1996) Pretreatment Serum Squamous cell Carcinoma Antigen: A Newly Identified Prognostic Factor in Early-Stage Cervical Carcinoma. *J Clin Oncol* 14, 111-118. 1997
8. Fleisher M. et al. (2002) Practice guidelines and recommendations for use of tumor markers in the clinic. *National Academy of Clinical Biochemistry* 15: p.19.
9. Yuyama N., et al., (2002) Analysis of novel disease-related genes in bronchial asthma. *Cytokine* 19(6), 287-296.
10. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices. Approved Guideline EP5-A (1999).
11. Röijer E., Nilsson K., Oskarsson M., Dahlén U., Andersson I., Nilsson O. (2003) Development of Monoclonal Antibodies and Immunoassays against different forms of Squamous Cell Carcinoma Antigens (SCCA). *Tumor Biol* 24, p. 83.
12. National Committee for Clinical Laboratory Standards, National Evaluation Protocols for Interference Testing, Evaluation protocol Number 7, Vol. 6, No 13, August (1986).



---

CanAg® es una marca comercial registrada de Fujirebio Diagnostics AB

Fujirebio Diagnostics AB  
Elof Lindälvs gata 13  
SE-414 55 Göteborg  
Sweden  
Phone + 46 31-85 70 30  
Fax + 46 31-85 70 40  
info@fdab.com  
www.fdab.com

