



ES

# EIA CanAg S100

REF

708-10

IVD



Instrucciones de uso. 2010-05

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	SEMNIȚAȚIA 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/  
Sunautoti iki/Izlietot līdz/Houdbaar  
tot/Brukes innen/Użyç przed/  
Prazo de validade/Expirã 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/  
Sarzsám/Codice del lotto/  
Partijas kods/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 produkcji/Data de fabrico/Data fabricației/Дата производства/  
Tillverkningsdatum/Dátum výroby/Datum izdelave/Datum proizvodnje/Üretim tarihi



Temperature limitation/  
Температурни граници/  
Теплотни омеzeи/  
Temperaturbegrænsning/  
Temperaturbegrenzung/  
Περιορισμοί θερμοκρασίας/  
Limites de temperatura/  
Temperatuuri piirang/  
Limite de température/  
Temperaturno ograničenje/  
Hőmérsékletre vonatkozó korlátozás/  
Limiti di temperatura/  
Temperatūriniai apribojimai/  
Temperatūras ierobežojums/  
Temperaturbepèrking/  
Temperaturbegrensninger/  
Temperaturey granične/  
Limite de temperatura/  
Limite de temperatură/  
Температурный режим/  
Temperaturbegrænsning/  
Теплотне обмеження  
Omejitve temperature/  
Temperaturno ograničenje/  
Sıcaklık sınırlaması/

## IVD

In Vitro Diagnostic Medical Device/  
Медицински уред за диагностика  
ин витро/Лéкаřský 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  
orvosdiagnosztikai eszköz/Dispositivo  
medico per test diagnostici in vitro/In  
Vitro Diagnostinė Medicinos Priemonė/  
Medicinska 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/  
Zdravotnička pomôcka na diagnostiku in  
vitro/In vitro diagnostični pripomoček/  
Diagnostički medicinski uređaj In  
Vitro/<96> testleri için yeterlilik içerir



Contains sufficient for <96> tests/Съдържа  
достатъчно количество за тестове  
<96>/Lze použít pro <96> testů/Ineholder  
tilstrækkeligt/Inhalt ausreichend für <96>  
Prüfungen/Πεξεχόμενο επαρκές για  
«96» εξετάσεις/Contenido suficiente para  
<96> ensayos/Kogusest piisab <96> testi  
läbiviimiseks/Contenu suffisant pour "96"  
tests/Sadržaj dovoljno za <96> testova/A  
doboz tartalma <96> vizsgálat elvégzéséhez  
elegendő/Contenuto sufficiente per "96"  
saggi/Turiny's skirtas atlikti <96> tyrimus/  
Saturis pietiekams <96> testiem/Inhoud  
voldoende voor "96" testen/til "96" test/  
Tilstrækkelig 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>/Vsebina zadostuje  
za <96> testov/Sadržina dovoljna za <96>  
testova/<96> testleri için yeterlilik içerir

## REF

Catalogue number/Каталожен номер/  
Katalogové číslo/Katalognummer/  
Bestellnummer/Αριθμός καταλόγου/  
Número de catálogo/Katalogi 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



Consult Instructions for Use/  
Прочетете инструкцията за  
употреба/Konzultujte s návodem  
k použití/Se brugsanvisning/Siehe  
Gebrauchsanweisung/Συμβουλευτείτε  
της 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/Dél  
naudojimo žiūrėkite instrukcijas/Izlasiet  
lietošanas instrukciju/Raadpleeg de  
instructies voor gebruik/Les instruksene  
for 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 Talimatlarını Bakınız



Contents of kit/Съдържание на набора/  
Obsah sady/Kittets inhold/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/Biológická rizika/Biologisk  
fare/Biologische Gefahren/Βιολογικοί  
κίνδυνοι/Riesgos biológicos/  
Bioloogilised ohud/Risques biologiques/  
Biolóškli rizici/Biológiai kockázatok/Rischi  
biologici/Biologinis pavojus/Biolóškiskais  
risks/Biologische risico's/Biologische  
risikoer/Zagroženie biologiczne/Riscos  
biológicos/ Biologisk risk/Pericole  
biologice/Биологическая опасность/  
Biologicky rizikové/Biologické riziká/  
Biolóškli rizici/Biyolojik riskler



Human/C човешки производ/Ľidské/  
Human/Human/ἄνθρωπος αναφοράς/  
Humano/Inimāritolu/Humaine/Ljudskog  
porjekla/Humán/Origine Umana/  
Žmogaus kilmės/Cilvēku izcelsmes/  
Human/Menneske/Ludzka/Humano/  
Origine umână/Человеческого  
происхождения/Human/Ludské/  
Humanega izvora/Ljudskog porekla/İnsan



From mouse/C миши производ/Myši/  
Fra mus/der Maus/από ποντίκι/de ratón/  
Hiirtelt/De souris/Mišijeg porjekla/  
Egérböli/Murino/Pelės kilmės/No peles/  
Van muizen/Fra mus/Mysia/Do rato/De  
la șoareci/Мышиного происхождения/  
Från mus/Myšije/Mišijega izvora/Mišijeg  
porekla/Fareden



Bovine/C говежди производ/  
Hovězí/Bovin/Rind/από βοοειδή/  
Bovino/Veistelt/Bovine/Rogate stoke/  
Szarvasmarha/Bovina/Jaučio/No  
liellopa/Bovien/Bovini/Wolowy/Bovino/  
Origine bovină/крупного рогатого  
скота/Från ko/Hovädzie/Rogaveja  
izvora/Rogate krupne stoke/Bovin



Reconstitute with/Разтваряне с/  
Rozfeďte pomocí/Rekonstitueres med/  
Rekonstituieren mit/Ανασύσταση με/  
Reconstituir con/Lahjendamine/  
Rekonstituer avec/Rekonstituiraite s/  
Feloldáshoz/Ricostituire con/Atkurti,  
ištirpdant su/Atšķaidīt ar/Rekonstituie  
met/Rekonstitueres med/Odtworzyć  
za pomocą/Reconstituir com/A  
se reconstitui cu/Разтворить в/  
Rekonstituera med/Rozriedte pomocou/  
Rekonstituiraite z/s/Ponovno formiranje  
sa/Yeniden oluşturulur



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

# EIA CanAg S100

Instrucciones de uso

Kit de ensayo inmunométrico enzimático  
Para 96 determinaciones

## USO PREVISTO

El kit EIA CanAg S100 está destinado a la determinación cuantitativa de S100B (S100A1B + S100BB) en suero.

## RESUMEN Y EXPLICACIÓN DEL ENSAYO

S100 es una proteína de 20 kDa perteneciente a la superfamilia de proteínas de unión al calcio de la mano-EF de S100/calmodulina/troponina C. La S100 se aisló originalmente del cerebro humano y se consideraba una proteína específica de las células gliales (1). Hoy en día, se han identificado 20 monómeros de la familia de S100 de acuerdo con semejanzas estructurales y funcionales (2, 3). La mayor parte de las proteínas S100 existen como dímeros y se expresan de una forma específica de cada célula. Dos de los monómeros de S100, designados S100A1 y S100B (4) están muy conservados entre las especies y se encuentran como homo (BB) y heterodímeros (A1B) en las células gliales del sistema nervioso central y en determinadas células periféricas, p. ej., células de Schwann, melanocitos, adipocitos y condrocitos (5). S100A1B y S100BB están presentes también en tejidos malignos, especialmente en el melanoma y, en menor medida, en el glioma, el carcinoma de células tiroideas y el carcinoma de células renales (2).

Se ha demostrado que la determinación de S100B en el suero es clínicamente útil para el pronóstico y la vigilancia del tratamiento de pacientes diagnosticados de melanoma maligno (6-9). Los estudios sugieren también que S100B podría ser útil en el manejo de pacientes con daño cerebral p. ej., por traumatismo craneal, asfisia perinatal, parada cardíaca, cirugía cardíaca e ictus (10-13).

## PRINCIPIO DE LA PRUEBA

El EIA CanAg S100 es un inmunoensayo en fase sólida, de dos pasos, no competitivo, basado en dos anticuerpos monoclonales de ratón específicos de dos epítopos diferentes expresados en S100B. El ensayo determina tanto S100A1B como S100BB sin reactividad cruzada con otras formas de S100. Los calibradores y las muestras de los pacientes se incuban junto con el anticuerpo monoclonal (MAb) S23 anti-S100B biotinilado en microtiras revestidas con estreptavidina. El S100B presente en los calibradores o muestras es adsorbido en los micropocillos revestidos con estreptavidina por el MAb anti-S100B biotinilado durante la incubación. A continuación, las tiras se lavan e incuban con el MAb S53 anti-S100B marcado con peroxidasa de rábano (HRP). 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. Si hay antígeno, durante la reacción enzimática se desarrollará un color azul. La intensidad del color es proporcional a la cantidad de S100B presente en las muestras. Dicha intensidad se determina en un espectrofotómetro de microplacas a 620 nm (o bien a 405 nm tras 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. Finalmente, se leen las concentraciones de S100B de las muestras de los pacientes a partir de la curva de calibración.

## REACTIVOS

- Cada kit EIA CanAg S100 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 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
------------	----------	---

<b>MICROPLA</b>
-----------------

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

12 x 8 pocillos 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 mantenerlas secas.

<b>Calibradores de S100</b>	6 viales, liofilizados	4 semanas a 2-8 °C 3 meses a –30° C o menos
-----------------------------	------------------------	--

CAL	S100	A	1 x 1 mL
CAL	S100	B	1 x 1 mL
CAL	S100	C	1 x 1 mL
CAL	S100	D	1 x 1 mL
CAL	S100	E	1 x 1 mL
CAL	S100	F	1 x 1 mL

Los calibradores liofilizados contienen S100B bovina en una matriz proteínica con NaN<sub>3</sub> al 0,02% como conservante. Para reconstituir con agua antes de su uso. **NOTA:** La concentración exacta de S100B es específica del lote y se indica en la etiqueta de cada vial.

<b>BIOTIN</b>	<b>Anti-S100</b>
---------------	------------------

<b>Anti-S100 con biotina</b>	1 x 15 mL	2–8 °C hasta la fecha de caducidad indicada en el vial
------------------------------	-----------	--

Anticuerpo monoclonal anti-S100 de ratón marcado con biotina, aproximadamente 2 µg/mL. Contiene solución salina tamponada con fosfato (pH 7,2) con CaCl<sub>2</sub>, albúmina sérica bovina, inmunoglobulina bovina, agentes bloqueantes, Tween 20, un colorante azul inerte y metilisotiazolona (MIT) al 0,01% como conservante. Listo para su uso.

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

CONJ	Anti-S100
------	-----------

**Marcador, Anti-S100 con HRP**                      1 x 0,75 mL                      2–8 °C hasta la fecha de caducidad indicada en el vial

Solución de reserva de anticuerpo monoclonal anti-S100 de ratón con HRP, aproximadamente 20 µg/mL. Contiene conservantes. Para mezclar con diluyente de marcador antes de su uso.

DIL	CONJ
-----	------

**Diluyente marcador**                      1 x 15 mL                      2–8 °C hasta la fecha de caducidad indicada en el vial

Contiene solución salina tamponada con fosfato (pH 7,2) con albúmina sérica bovina, agentes bloqueantes, detergentes, un colorante azul inerte y metilisotiazolona (MIT) al 0,01% como conservante. Listo para su uso.

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

**Sustrato TMB de HRP**                      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
------

**Solución de parada**                      1 x 15 mL                      2–8 °C hasta la fecha de caducidad indicada en el vial

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

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

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

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

Solución salina tamponada con Tris-HCl y estabilizada con Tween 20. Contiene Germall II como conservante. Para diluir con agua 25 veces antes de usar.

### Indicaciones de inestabilidad

La solución de sustrato TMB de HRP 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 número 88-8395 (CDC) del U.S. Department of Health and Human Services (Bethesda, Md., EEUU) sobre procedimientos de seguridad en el laboratorio, o la correspondiente normativa local o nacional.
- Manipule todas las muestras de pacientes como potencialmente infecciosas.
- Los reactivos contienen azida de sodio ( $\text{NaN}_3$ ) como conservante. La azida de sodio puede reaccionar con las cañerías de plomo y cobre para formar azidas metálicas altamente explosivas. Al desecharla, enjuague con abundante agua para impedir la acumulación de azidas.
- Siga las directrices locales para la eliminación de todos los materiales de desecho.

### RECOGIDA Y PREPARACIÓN DE MUESTRAS

El kit EIA CanAg S100 está diseñado para utilizarse 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 24 horas. Para períodos más largos, se recomienda conservar las muestras a -20 °C o menos. Evite la congelación y descongelación repetidas 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 entre moderada y vigorosa. Agitación longitudinal de aproximadamente 200 golpes/min; 700-900 oscilaciones/min.

#### 2. Lavador de microplacas

El lavador automático de placas debe ser capaz de realizar 1 y 6 ciclos de lavado con un volumen de llenado mínimo de 350  $\mu$ L por pocillo y ciclo de lavado.

Se recomienda el lavador manual de tiras Nunc Immuno-8, si no se utiliza un lavador automático 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  $\mu$ L son útiles, pero no esenciales.

#### 5. Agua destilada o desionizada

Para la reconstitución de los calibradores de S100 y para la elaboración de la solución de lavado.

### Notas del procedimiento

1. Es necesaria la total comprensión de las instrucciones que figuran en este prospecto para garantizar un uso adecuado del kit EIA CanAg S100. 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 la 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 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 déle golpes suaves contra papel absorbente.
  - Lavador automático de tiras: Siga las instrucciones del fabricante para efectuar una limpieza y un mantenimiento apropiados y realice el número necesario de ciclos de lavado antes y después de cada paso de la incubación. Es muy recomendable utilizar el modo de procesamiento *strip* (tira) y el modo de lavado *overflow* (desbordamiento) con un volumen de dispensación 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 de líquido.
5. La solución de sustrato TMB de HRP es muy sensible a la contaminación. Para una estabilidad óptima de la solución de sustrato TMB de HRP, vierta la cantidad necesaria del vial en un reservorio limpiado cuidadosamente o, mejor, a en 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 preciso 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. Usar una técnica de pipeteado adecuada es especialmente importante al manipular la solución de sustrato TMB de HRP.

---

<b>Preparación de los reactivos</b>	<b>Estabilidad del reactivo preparado</b>
-------------------------------------	---

---

**Calibradores de S100**

4 semanas a 2-8°C  
3 meses a -30° o menos

Añada exactamente 1,0 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.

---

**Solución de lavado**

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.

---

**Solución de trabajo de marcador**

3 semanas a 2-8 °C  
en un recipiente cerrado

Prepare la cantidad necesaria de solución de trabajo de marcador mezclando 50 µL de marcador, anti-S100 con HRP, con 1 mL de diluyente marcador por tira (véase la tabla siguiente):

---

<b>Número de tiras</b>	<b>Marcador, HRP Anti-S100 (µL)</b>	<b>Diluyente marcador (mL)</b>
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 trabajo del marcador.

**Alternativa:** Vierta el contenido del marcador, anti-S100 con HRP, en el vial de diluyente marcador y mezcle suavemente. Compruebe que todo el contenido del vial del marcador, anti-S100 con HRP, se transfiera al vial de diluyente marcador.

**NOTA:** La solución de trabajo de marcador es estable durante 3 semanas a una temperatura de 2 °C a 8 °C. No prepare más solución de trabajo de marcador de la que vaya a utilizar en este periodo y asegúrese de almacenarla correctamente.

# Hoja de protocolo

**EIA CanAg S100** REF **708-10**

Prepare los componentes directamente antes de utilizarlos. Use las condiciones de agitación indicadas en las instrucciones.

Paso	Frasco/Placa	Procedimiento																																							
1.	<table border="1"><tr><td>CAL</td><td>S100</td></tr><tr><td colspan="2">A, B, C, D, E, F</td></tr></table>	CAL	S100	A, B, C, D, E, F		Añada exactamente 1 mL de agua destilada a cada vial y mezcle suavemente. Deje reposar durante al menos 15 minutos. <b>NOTA:</b> La concentración exacta de cada calibrador está indicada en la etiqueta. Estabilidad de la solución reconstituída: 4 semanas a 2-8 °C.																																			
	CAL	S100																																							
	A, B, C, D, E, F																																								
<table border="1"><tr><td>WASHBUF</td><td>25X</td></tr></table>	WASHBUF	25X																																							
WASHBUF	25X																																								
<table border="1"><tr><td>CONJ</td><td>Anti-S100</td></tr><tr><td>DIL</td><td>CONJ</td></tr></table>	CONJ	Anti-S100	DIL	CONJ																																					
CONJ	Anti-S100																																								
DIL	CONJ																																								
		Diluya 50 mL de concentrado de lavado con 1.200 mL de agua destilada o desionizada.																																							
		Mezcle 50 µL de marcador, anti-S100 con HRP con 1 mL de diluyente de marcador por tira:																																							
		<table border="1"><thead><tr><th>N.º de tiras</th><th>Marcador, HRP Anti-S100 (µL)</th><th>Diluyente marcador (mL)</th></tr></thead><tbody><tr><td>1</td><td>50</td><td>1</td></tr><tr><td>2</td><td>100</td><td>2</td></tr><tr><td>3</td><td>150</td><td>3</td></tr><tr><td>4</td><td>200</td><td>4</td></tr><tr><td>5</td><td>250</td><td>5</td></tr><tr><td>6</td><td>300</td><td>6</td></tr><tr><td>7</td><td>350</td><td>7</td></tr><tr><td>8</td><td>400</td><td>8</td></tr><tr><td>9</td><td>450</td><td>9</td></tr><tr><td>10</td><td>500</td><td>10</td></tr><tr><td>11</td><td>550</td><td>11</td></tr><tr><td>12</td><td>600</td><td>12</td></tr></tbody></table>	N.º de tiras	Marcador, HRP Anti-S100 (µL)	Diluyente marcador (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
N.º de tiras	Marcador, HRP Anti-S100 (µL)	Diluyente marcador (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																																							

2.	Lave	<b>MICROPLA</b>	Lave cada pocillo una vez con la solución de lavado. Use lavador manual o automático.
3.	Añada los calibradores y las muestras	<b>CAL S100</b> A, B, C, D, E, F	50 µL en cada pocillo
4.	Añada anti-S100 con biotina	<b>BIOTIN Anti-S100</b>	100 µL en cada pocillo
5.	Incube	<b>MICROPLA</b>	Agitación durante 2 horas a temperatura ambiente
6.	Lave	<b>MICROPLA</b>	Lave cada pocillo tres veces con la solución de lavado. Use lavador manual o automático.
7.	Añada solución de trabajo de marcador	<b>SOLUCIÓN DE TRABAJO DE MARCADOR</b>	100 µL en cada pocillo
8.	Incube	<b>MICROPLA</b>	Agitación durante 1 hora a temperatura ambiente
9.	Lave	<b>MICROPLA</b>	Lave cada pocillo seis veces con la solución de lavado. Use lavador manual o automático.
10.	Añada sustrato TMB de HRP	<b>SUBS TMB</b>	100 µL en cada pocillo
11.	Incube	<b>MICROPLA</b>	Agitación durante 30 min a temperatura ambiente
12.	Lea la absorbancia	<b>MICROPLA</b>	620 nm
12 (alternativo).	Añada la solución de parada	<b>STOP</b>	100 µL en cada pocillo
13 (alternativo).	Incube	<b>MICROPLA</b>	Agitación durante 1 min a temperatura ambiente
14 (alternativo).	Lea la absorbancia	<b>MICROPLA</b>	Lea el resultado a 405 nm antes de 15 min.

## Procedimiento del ensayo

Realice cada determinación por duplicado para los calibradores y las muestras de los pacientes. Debe elaborarse 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 S100, la solución de lavado y la solución de trabajo de marcador. Es importante usar recipientes limpios. Siga las instrucciones cuidadosamente.
2. Transfiera el número necesario de tiras de microplacas a un soporte 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 50 µL de los calibradores de S100 (CAL A, B, C, D, E, F) y las muestras de pacientes (desconocidos o "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	etc.				
B	Cal A	Cal E					
C	Cal B	Cal F					
D	Cal B	Cal F					
E	Cal C	Desc.1					
F	Cal C	Desc. 1					
G	Cal D	Desc. 2					
H	Cal D	Desc. 2					

4. Añada 100 µl de anti-S100 con biotina 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 2 horas ( $\pm$  10 min) a temperatura ambiente (20–25°C) con agitación constante de la placa usando un agitador de microplacas.
6. Tras la primera incubación, aspire y lave cada tira 3 veces usando el procedimiento de lavado descrito en las notas del procedimiento, apartado 4.

7. Añada 100  $\mu$ L de solución de trabajo de marcador a cada pocillo. Use el mismo procedimiento de pipeteado que en el punto 4 anterior.
8. Incube el marco durante 1 hora ( $\pm$  5 min) a temperatura ambiente con agitación constante.
9. Tras la segunda incubación, aspire y lave cada tira 6 veces, usando el procedimiento de lavado descrito en las Notas sobre el procedimiento, apartado 4.
10. Añada 100  $\mu$ L de sustrato TMB de HRP a cada pocillo usando el mismo procedimiento de pipeteado que en el punto 4. La solución de sustrato TMB de HRP debe añadirse a los pocillos con la mayor rapidez posible y el tiempo entre la adición al primer pocillo y al último no debe superar los 5 minutos.
11. Incube durante 30 min ( $\pm$  5 min) a temperatura ambiente, agitando constantemente. Evite la luz directa del sol.
12. Lea inmediatamente la absorbancia a 620 nm en un espectrofotómetro de microplaca.

### Opción

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

- 12 (alternativo). Añada 100  $\mu$ L 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 S100 EIA mide concentraciones de entre 10  $\mu$ g/L y 3500  $\mu$ g/L. Si se van a esperar concentraciones de S100B 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 S100B endógena (véase "Cálculo de los resultados").

### Control de calidad

Se recomiendan los niveles 1 y 2 (disponibles por separado, REF 107-20) del CanChek Tumor Marker Control Sera, para la validación de la serie de ensayos. Si se obtienen valores fuera del rango especificado, deberán revisarse completamente los reactivos y el funcionamiento del lector y repetirse el análisis.

### Material de referencia

Como no se dispone de material de referencia común para S100A1B o S100BB, los valores de calibrador de S100 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 S100.

Para el cálculo automático de los resultados de S100, 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 S100 frente a la concentración de S100 correspondiente (en µg/L) (véase la figura más abajo). Las concentraciones de S100 desconocidas pueden leerse después a partir de la curva de calibración usando el valor de absorbancia medio de cada muestra de paciente.

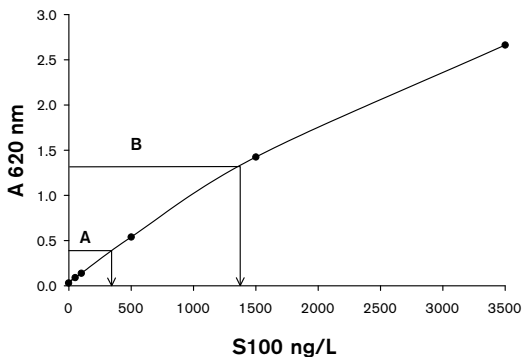
Si las muestras en un análisis inicial dan valores de S100 mayores que el calibrador F (aproximadamente 3500 ng/L), deben diluirse 1/10 con suero humano normal y reanalizarse para obtener la concentración exacta de S100. **NOTA:** La muestra empleada para la dilución debe medirse también para determinar la concentración de S100 endógena.

La concentración de S100 de la muestra no diluida se calcula de la siguiente manera:

$$\text{Dilución a 1/10: } 10 \times ([S100]_{\text{Muestra diluida}} - (0,9 \times [S100]_{\text{Suero normal}}))$$

## Ejemplo de resultados

Muestra			Valores del calibrador	Valor de la abs. media (A)	S100 (ng/l)
CAL	S100	A	0 ng/L	0,041	
CAL	S100	B	50 ng/L	0,091	
CAL	S100	C	100 ng/L	0,139	
CAL	S100	D	500 ng/L	0,540	
CAL	S100	E	1500 ng/L	1,425	
CAL	S100	F	3500 ng/L	2,663	
Muestra A				0.352	305
Muestra B				1.377	1435



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

## LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

El nivel de S100 no puede usarse como prueba absoluta de la presencia o ausencia de enfermedad maligna, y no debe utilizarse la prueba de S100 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 S100 no debe sustituir a ninguna exploración clínica establecida.

Deben interpretarse con cuidado los aumentos de la S100B en el suero en pacientes sometidos a traumatismos, como fracturas óseas, quemaduras, daño de partes blandas internas y cirugía, porque estos problemas están relacionados con liberación significativa de S100B (14).

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 incluyan agentes bloqueantes específicos en el tampón.

## VALORES ESPERADOS

Se midió la S100B en 269 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%.

	<b>Media (ng/L)</b>	<b>DE (ng/L)</b>	<b>Límite de referencia superior</b>
Donantes de sangre sanos n=269	54	15,6	90 ng/L

Se recomienda que cada laboratorio establezca su propio rango normal para tener en cuenta factores ambientales locales, como la dieta, el clima, las condiciones de vida, la selección de pacientes, etc.

## CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

### Precisión

La precisión total se calculó según la directriz EP5-A (15) del NCCLS usando cuatro niveles de suero humano agrupado congelado que contenía antígeno S100 añadido y 22 combinaciones de reactivos diferentes del kit EIA CanAg S100. Cada muestra se pipeteó aleatoriamente (n = 2/análisis) y se analizó dos veces cada día durante 20 días.

Muestra	Duplicados	Media (U/mL)	DE intraensayo (U/mL)	CV intraensayo, %	DE interdías (U/mL)	CV interdías, %
S100 1	80	70	2	2,5	2	2,2
S100 2	80	302	5	1,6	8	2,5
S100 3	80	1440	20	1,4	21	1,5
S100 4	80	2260	30	1,3	85	2,0

### Límite de detección

El límite de detección del kit EIA CanAg S100 es  $\leq 10$   $\mu\text{g/L}$ , definido como la concentración correspondiente a la media de los valores de absorbancia del calibrador A de S100 más 2 desviaciones estándar, según la fórmula:

$$\frac{2 \times \text{DE CAL A}}{\text{DO CAL B} - \text{DO CAL A}} \times [\text{CAL B}] \text{ ng/L}$$

### Recuperación

Se prepararon muestras de suero enriquecidas añadiendo antígeno S100 humano a muestras de suero normales. La recuperación del antígeno añadido estuvo en el rango del 97% al 105%. **NOTA:** no deben realizarse estudios de recuperación usando los calibradores del kit.

### Efecto de gancho

No se ha observado efecto de gancho con muestras de hasta 150.000  $\mu\text{g/L}$ . **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 en + el 10% de los valores esperados.

## Especificidad

El EIA CanAg S100 se basa en dos anticuerpos monoclonales de ratón específicos para dos epitopos diferentes expresados en S100B, el MAb capturador S23 y el MAb detector S53. Por tanto, el ensayo determina tanto S100A1B como S100BB sin reactividad cruzada con otras formas de S100. Se siguió la directriz EP7-P (16) del NCCLS para determinar posibles fuentes de interferencia. Se estudiaron las siguientes sustancias y concentraciones y se observó que no interfieren con la prueba.

---

	<b>Concentración sin interferencia significativa (<math>\pm</math> 10%)</b>
Lipemia (Intralipid®)	10 mg/mL
Bilirrubina no conjugada	0,6 mg/mL
Hemoglobina	3,9 mg/mL

---

## Comparación de métodos

Se comparó el EIA CanAg S100 con el Sangtec 100. Se midieron noventa y ocho muestras de suero humano de pacientes con melanoma maligno, que iban en valores de 0 a 8.000 ng/l y los análisis de regresión lineal de los resultados dieron:

$$\text{CanAg S100} = 0,4 \times \text{Sangtec 100} + 0,03 \quad r = 0,99$$

## **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. Beiberthaler P et al., (2006) Serum S-100B concentration provides additional information for the indication of computed tomography in patients after minor head injury *Shock* 25:446-453.
2. Moore BW (1965) A soluble protein characteristic of the nervous system. *Biochem Biophys Res Commun* 19:739-744.
3. Zimmer DB et al., (1995) The S100 protein family history, function and expression. *Brain Res Bull* 37:417-429.
4. Heizmann CW et al., (2002) S100 proteins: structure, functions and pathology. *Front Biosci* 7:1356-1368.
5. Schäfer BW et al. (1995) Isolation of a YAC clone covering a cluster of nine S100 genes on human chromosome 1q21: rationale for a new nomenclature of the S100 calcium-binding protein family. *Genomics* 25:638-643.
6. Takahashi K et al., (1984) Immunohistochemical study on the distribution of  $\alpha$  and  $\beta$  subunits of S-100 protein in human neoplasm and normal tissues. *Virchows Arch* 45:385-396.
7. Banfalvi T et al., (2003) Use of serum S-100B and S-100 $\beta$  protein levels to monitor the clinical course of malignant melanoma. *Eur J Cancer* 39:164-169.
8. Djureen-Mårtensson E, et al., (2001) Serum S-100 $\beta$  protein as a prognostic marker in malignant cutaneous melanoma. *J Clin Oncol* 19:824-831.
9. Hauschild A et al., (1999) S100 $\beta$  protein detection in serum is significant prognostic factor in metastatic melanoma. *Oncology* 56:338-344.
10. Wunderlich MT et al., (1999) Early Neurobehavioral Outcome after stroke is related to release of neurobiochemical markers of brain damage. *Stroke* 30:1190-1195.
11. Martens P et al., (1998) Serum S100 and neuron specific enolase for prediction of regaining consciousness after global cerebral ischemia. *Stroke* 29:2363-2366.
12. Rosén H et al., (1998) Increased serum levels of the S-100 protein are associated with hypoxic brain damage after cardiac arrest. *Stroke* 29: 473-477.
13. Ingebrigtsen T et al.,(2000) The clinical value of serum S-100 protein measurements in minor head injury: a Scandinavian multicentre study. *Brain Inj* 14:1047-1055.
14. Michetti F and Gazzolo D (2002) S100 $\beta$  protein in biological fluids: A tool for perinatal medicine *Clin Chem* 48:2097-2104.
15. Anderson R et al., (2001) High serum S100 $\beta$  levels for trauma patients without head injuries *Neurosurgery* 48:1255-1258.

16. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices. Approved Guideline EP5-A (1999).
17. National Committee for Clinical Laboratory Standards, National Evaluation Protocols for Interference Testing, Evaluation protocol Number 7, Vol. 6, No 13, August (1986).



---

CanAg<sup>®</sup> es una marca registrada de Fujirebio Diagnostics AB

**Fujirebio Diagnostics AB**

Elof Lindälv's gata 13

SE-414 55 Gotemburgo

Suecia

Teléfono + 46 31 85 70 30

Fax + 46 31 85 70 40

[info@fdab.com](mailto:info@fdab.com)

[www.fdab.com](http://www.fdab.com)

