

PATHOZYME – PROLACTIN Ref OD427

Enzimaimunoensaio (EIA) para a determinação quantitativa da Prolactina no soro humano. Conservar de 2°C a 8°C. NÃO CONGELAR. Somente para Uso Diagnóstico in vitro.

INTRODUÇÃO

A Prolactina humana (hormônio lactogênico) é secretada tanto em homens quanto em mulheres pela glândula pituitária anterior. É um hormônio polipeptídico de cadeia simples com peso molecular aproximado de 23000 Dalton. A liberação e síntese da Prolactina ocorrem via controle neuroendócrino, primariamente pelo Fator de Liberação da Prolactina e pelo Fator de Inibição de Prolactina.

A mulheres normalmente possuem um nível basal de Prolactina ligeiramente mais elevado, devido ao aumento relacionado ao estrogênio na puberdade e correspondente falha na menopausa. A função primária da prolactina é no desenvolvimento dos seios e na manutenção da lactação, embora isto esteja também envolvido na função de supressão das gônadas.

Durante a gravidez, os níveis de prolactina aumentam 10-20 vezes do valor normal e decaem a níveis de não gravidez dentro de 2-3 semanas após o parto. Mulheres que amamentam mantêm os níveis de prolactina altos podendo demorar muitos meses até retornar aos valores de antes da gravidez.

A determinação das concentrações de prolactina é útil no diagnóstico de doenças relacionadas ao hipotálamo-pituitário.

Microadenomas (pequenos tumores na pituitária) podem causar hiper-prolactinemia, que são geralmente associados com impotência nos homens. Altos níveis de prolactina são geralmente associados com galactorrêia e amenorréia. As concentrações de prolactina são aumentadas pelos estrogênios, hormônios de liberação da tireotrofina (THR) e muitas drogas que afetam os mecanismos dopaminérgicos. Níveis de prolactina são elevados nas doenças renais e hipotireoidismo e algumas vezes associados com estresse, exercícios e hipoglicemia. Adicionalmente, a liberação de prolactina é episódica e demonstra variações durante o dia. Níveis levemente aumentados de prolactina devem ser avaliados levando-se em conta essas condições. O aumento de prolactina pode ser afetado por drogas como clorpromazina e Reserpina, e pode ser diminuído pela Bromocriptina e L-Dopa.

FINALIDADE DE USO

PATHOZYME PROLACTIN é um enzimaimunoensaio (EIA) para a determinação quantitativa da Prolactina no soro humano.

Somente para uso profissional.

PRINCÍPIO DO TESTE

As cavidades da microplaca são revestidas com anticorpos específicos anti-Prolactina. Aplica-se o soro a testar. Adiciona-se o conjugado enzimático composto de anticorpo monoclonal anti-Prolactina marcado com a peroxidase. Se houver Prolactina na amostra está vai se combinar com o anticorpo na cavidade e o conjugado enzimático, formando um sanduíche entre a fase sólida e os anticorpos ligados à enzima. Após incubação, as cavidades são lavadas com água para a remoção dos materiais não ligados. Adiciona-se o substrato (TMB) e a cor se desenvolverá somente nas cavidades onde a enzima estiver presente indicando a presença de Prolactina no soro. A reação enzimática é interrompida pela adição de Ácido Clorídrico diluído e a absorbância é medida a 450 nm. A concentração de Prolactina é diretamente proporcional à intensidade de cor da amostra teste.

Este teste foi calibrado segundo padrões internos, pois não existe padronização internacional para o mesmo.

CONTUEDOS

Ref
OD427



Microtitre Plate 12 x 8 cavidades x 1

Cavidades sensibilizadas com anticorpos específicos, acondicionadas em embalagens de alumínio com dessecante, que podem ser seladas novamente.

Cal A 0 ng/ml 1ml

Padrão referência: soro humano não contendo Prolactina. Liofilizado

Cal B 5 ng/ml 1ml

Padrão referência: Prolactina diluída em soro humano. Liofilizado

Cal C 15 ng/ml 1ml

Padrão referência: Prolactina diluída em soro humano. Liofilizado

Cal D 50 ng/ml 1ml

Padrão referência: Prolactina diluída em soro humano. Liofilizado

Cal E 100ng/ml 1ml

Padrão referência: Prolactina diluída em soro humano. Liofilizado

Cal F 200 ng/ml 1ml

Padrão referência: Prolactina diluída em soro humano. Liofilizado

Conj 11ml

Conjugado anti-Prolactina-HRP:
Conjugado anti-Prolactina conjugada a peroxidase. Pronto para uso. (rosa)

Subs TMB 11 ml

Solução substrato (TMB) Pronto para uso. (incolor)

Soln Stop HCl 1M 11ml

Solução Bloqueadora. Ácido clorídrico diluído em água purificada. Pronto para o uso (incolor)

Instruções de uso. Folha de Registro de Dados EIA 1+1

MATERIAL NECESSÁRIO MAS NÃO FORNECIDO

- Micropipetas: 100, 200, 1000 µl.
- Ponteiras descartáveis
- Papel absorvente
- Leitor de microplacas com filtro de 450 nm
- Papel gráfico
- Vidraria de laboratório limpa

PRECAUÇÕES

PATHOZYME PROLACTIN contém materiais de origem humana que foram testados e confirmados com resultado negativo para anticorpos anti-HCV, anti-HIV I e II e HBSAg através de procedimentos aprovados, sendo realizados para cada doador. Como nenhum teste pode oferecer uma completa segurança que produtos derivados de material humano não transmitam agentes infecciosos, recomenda-se que os reagentes contidos neste kit sejam manuseados com o devido cuidado e atenção durante o uso e descarte. Todos os reagentes devem, portanto, serem tratados como material de potencial risco biológico durante o uso e descarte. Não ingerir.

Os reagentes do PATHOZYME PROLACTIN não contém substâncias perigosas como definido no regulamento UK Chemicals (Informações e Embalagem para fornecimento de material de Risco). Entretanto, todos os reagentes devem ser tratados como de risco biológico potencial durante o uso e descarte. O descarte final deve ser realizado de acordo com a legislação local.

PATHOZYME PROLACTIN Solução de Bloqueio é uma solução de ácido clorídrico diluído e é, portanto, corrosiva. Manipular com cuidado. Em caso de contato, lavar abundantemente com água corrente.

PATHOZYME PROLACTIN contém reagentes com 1% Proclin™ 300* como conservante, que pode ser tóxico caso seja ingerido. Em caso de contato, lavar completamente com água corrente.

* Proclin™ 300 é uma marca comercial pertencente a ROHM e HAAS limitada.

ARMAZENAMENTO

Os reagentes devem ser armazenados a temperatura entre 2°C a 8°C.

A data de vencimento é o último dia do mês indicado nos rótulos dos frascos e do kit. O kit funcionará dentro das especificações até a data de vencimento estipulada, baseada na data de fabricação do produto e impressa no kit e em seus componentes.

Não utilizar os reagentes após a data de vencimento. Evitar a exposição a temperaturas excessivas. Não expor diretamente a luz solar.

NÃO CONGELAR NENHUM DOS REAGENTES pois isso causará danos irreversíveis.

COLETA E PREPARAÇÃO DA AMOSTRA

Obter uma amostra de sangue venoso do paciente, permitindo que o coágulo seja formado e retraído. Centrifugar a amostra de sangue coagulada e coletar o soro límpido. O teste requer amostra de soro fresco.

Não usar soro hemolisado, contaminado ou lipêmico para o teste, pois isso afetará desfavoravelmente os resultados. O soro pode ser armazenado a 2°C a 8°C por até 48 horas antes do uso. Se for necessário um armazenamento mais longo, armazenar a -20°C por até 1 ano. Amostras descongeladas devem ser homogeneizadas antes do uso. Não usar azida sódica como conservante pois esta poderá inibir o sistema enzimático peroxidase. Não congelar e descongelar repetidamente o soro, pois isso pode causar resultados falsos.

PREPARAÇÃO DOS REAGENTES

Todos os reagentes devem estar à temperatura ambiente (20°C a 25°C) e devem ser homogeneizados antes do uso. Evitar a formação de espuma.

Adicionar um 1 ml de água destilada a cada frasco de Padrão liofilizado. Aguardar por no mínimo 20 minutos e homogeneizar cuidadosamente. Armazenar a -20°C quando não estiver em uso. Os padrões re-hidratados podem ser armazenados por 30 dias entre 2°C a 8°C. Para armazenamento por períodos mais longos alíquotar e congelar a -20°C. Descongelar apenas uma vez. Padrões descongelados devem ser homogeneizados antes do uso.

LIMITAÇÕES DE USO

A utilização de outras amostras que não sejam soro, não foi validada para este teste. Não existe protocolo para a reutilização deste produto. Levar em conta todos os dados clínicos na interpretação dos testes. O diagnóstico não deve ser feito baseado somente nos dados de um ensaio clínico.

PROCEDIMENTO DO ENSAIO

1. Deixar todos os componentes do kit e o soro teste atingirem a temperatura ambiente (20°C a 25°C) antes de iniciar o ensaio.
2. O soro controle do kit deve ser testado com cada grupo de amostras. Selecionar o número de cavidades desejadas prendendo-as no suporte. Anotar a posição do soro controle e dos soros a testar na "Folha de Registro de Dados EIA" fornecida.
3. As tiras que não forem usadas devem ser seladas novamente na embalagem de alumínio contendo o dessecante, utilizando-se o selador "zip-lock", antes de serem recolocadas a 2°C a 8°C.
4. Dispensar 50µl de padrões e soro teste em cada cavidade determinada.
5. Dispensar 100µl de Conjugado anti-Prolactina em cada cavidade.
6. Homogeneizar completamente por 10 segundos. É muito importante homogeneizar bem.
7. Incubar por 45 minutos a temperatura ambiente de 20°C a 25°C.
8. No final do período de incubação, descartar o conteúdo das cavidades com um rápido movimento, no recipiente de material contaminado. Bater as cavidades sobre um papel absorvente. Assegurar-se que o recipiente de material contaminado contém um desinfetante apropriado.
9. Lavagem manual: Preencher as cavidades com um mínimo de 300 µl de Água destilada por cavidade. Despejar o tampão de dentro das cavidades para o interior do recipiente de material contaminado. Bater as cavidades sobre um papel absorvente.
10. Bater as cavidades sobre um papel absorvente ou papel toalha para remover todo o resíduo de água.
11. Lavagem automática: assegurar-se que 300 µl de Água destilada são dispensados por cavidade e que o recipiente de material contaminado contém um desinfetante apropriado. Lavar as cavidades vazias 5 vezes. Após lavagem remover o excesso de fluido batendo as cavidades sobre papel absorvente ou papel toalha, para retirar todo o resíduo de água.
12. Dispensar 100 µl da Solução Substrato em cada cavidade e homogeneizar suavemente por 5 segundos.
13. Incubar no escuro por 20 minutos a temperatura ambiente (20°C a 25°C).
14. Interromper a reação pela adição de 100 µl da Solução de Bloqueio em cada cavidade.
15. Homogeneizar suavemente por 30 segundos para certificar-se que a cor azul mudará completamente para amarelo.
16. Ler a densidade óptica a 450 nm com um leitor de microplacas imediatamente após o bloqueio da reação.

RESOLUÇÃO DE PROBLEMAS

Para uso por operadores com um mínimo de treinamento básico em laboratório. Não utilizar componentes do kit danificados ou contaminados. Utilizar ponteiros separados para cada amostra a fim de prevenir a contaminação cruzada. Teste em duplicata dos padrões e amostras, apesar de não requerido, é recomendado. As amostras e controles devem ser testados ao mesmo tempo para que as condições do teste sejam as mesmas. Caso se realize pipetagem manual, recomenda-se não se utilizar mais que 32 cavidades em cada ensaio e que a pipetagem de todos os padrões e amostras seja realizada dentro de 3 minutos. Uma placa completa de 96 cavidades pode ser utilizada se houver disponibilidade de pipetagem automatizada. Recolocar as tampas em todos os reagentes imediatamente após o uso. Evitar pipetagens repetidas dos reagentes de estoque porque isso poderá causar contaminação. Não misturar reagentes ou cavidades marcadas com anticorpos de diferentes kits. Cuidado para não tocar a superfície da cavidade durante a dispensação. Evitar que os reagentes escorram pela parede da cavidade. Antes de iniciar o teste deixar os reagentes atingirem a temperatura ambiente (20°C a 25°C). Homogeneizar todos os reagentes, com cuidado, por inversão ou rotação. Uma vez iniciado o teste não deixar que as cavidades sequem. Não contaminar a Solução Substrato o que tornará o kit inoperante. Checar a precisão e exatidão dos equipamentos laboratoriais utilizados durante o procedimento para assegurar resultados reprodutíveis. As tiras não utilizadas devem ser seladas novamente dentro da embalagem de alumínio contendo o dessecante, utilizando-se para isso o "zip-lock" e armazenadas a 2°C a 8°C.

CÁLCULO DOS RESULTADOS

Calcular a absorbância média de cada padrão e amostras. Construir uma curva padrão em um papel gráfico, colocando os valores obtidos das absorbâncias de cada padrão versus a sua concentração em ng/ml, com os valores da absorbância no eixo Y e as concentrações no eixo X. Usar os valores de absorbância de cada amostra para determinar a concentração correspondente de Prolactina em ng/ml utilizando a curva padrão.

Se os níveis dos controles ou amostras conhecidas não fornecerem os resultados esperados, os resultados dos testes devem ser considerados inválidos.

Se estiver usando um software para calcular a curva, escolha curva de regressão quadrática.

VALORES ESPERADOS E SENSIBILIDADE

O gráfico produzido pelos Calibradores deve ter a forma hiperbólica proporcional à concentração dos calibradores com a DO em 450 nm. A DO do Calibrador A deve ser menor que 0.75 e a DO do Calibrador F deve ser maior que 1.5 para que os resultados dos testes sejam válidos.

Cada laboratório deve estabelecer seus valores próprios baseado na população local. Baseando-se em número limitado de amostras de sangue de adultos são, a concentração média de Prolactina para homens (n=90) e mulheres (n=120) foi estimado ser 6 e 15 ng/ml respectivamente. A concentração mínima de Prolactina detectável por este teste é de 2 ng/ml.

Em concentrações de 4.000 ng/ml, usando **PATHOZYME PROLACTIN** não há efeito prozona (Hook).

AValiação DOS DADOS

Calibrado em relação aos maiores competidores e a padrões internos.

O coeficiente de variação do **PATHOZYME PROLACTIN** é menor ou igual a 10%. Em uma avaliação entre o kit Omega Pathozyme Prolactina e o kit da SeroM AIAcione Prolactina para amostras com níveis entre 1.2 e 265.9 ng/ml os seguintes dados foram obtidos:

Número de Amostras	123
Coefficiente de Correlação	0.99
Slope (Declive)	0.9344
Intercept (Interceptação)	-2.16
Média Omega	23.4 ng/ml
Média SeroM AIAcione	22.6 ng/ml

Os resultados entre os kits mostram excelente correlação.

REFERÊNCIAS

1. Uotila M, Ruoslahti E and Engvall E. J. Immunol. Methods. 1981. 42:11-15.
2. Shome B and Parlow AF. J. Clin. Endocrinol. Metab. 1977. 45:1112-1115.
3. Cowdwn EA, Ratcliffe WA, Beasrall GH and Ratcliffe JG. Annals Clin. Biochem. 1979. 16:113-121.
4. Frantz AG. N. Engl. J. Med. 1978. 298:201-207.
5. Jacobs L, Snyder P, Wilber Utiger R and Daughaday W. J. Clin. Endocrin. 1978. 33:996.

PROCEDIMENTO RÁPIDO

1. Dispensar 50 µl dos padrões ou soro teste e 100 µl do Conjugado Anti-Prolactina em cada cavidade e misturar bem por 10 segundos.
2. Incubar por 45 minutos a temperatura ambiente (20°C a 25°C).
3. Descartar os conteúdos das cavidades e lavar por cinco vezes.
4. Adicionar 100 µl de Solução Substrato em cada cavidade e homogeneizar cuidadosamente por 5 segundos.
5. Incubar no escuro por 20 minutos a temperatura ambiente (20°C a 25°C).
6. Adicionar 100 µl de Solução Bloqueadora em cada cavidade e homogeneizar cuidadosamente por 30 segundos.
7. Ler as Densidades Ópticas imediatamente (no máximo em 10 minutos) usando um leitor de microplaca com filtro 450 nm.

8092 ISSUE 3 Revised May 2003

© Omega Diagnostics Ltd., 2003. PORTUGUESE



OMEGA DIAGNOSTICS LTD.
Omega House, Hillfoots Business Village
Alva FK12 5DQ, Scotland, United Kingdom
odl@omegadiagnostics.co.uk
www.omegadiagnostics.com

AN ISO 9001 AND ISO 13485 CERTIFIED COMPANY