

# PATHOZYME® PROLACTIN <sup>Ref</sup> OD427

## Inmunoanálisis de enzima (EIA) para la determinación cuantitativa de la prolactina en suero humano

Almacene entre los 2°C y los 8°C. NO CONGELE

Para uso in vitro únicamente

### INTRODUCCIÓN

La prolactina humana (hormona lactogénica) es secretada tanto en hombres como en mujeres por la glándula pituitaria anterior. Es una hormona de cadena sencilla poli péptida con un peso molecular de aproximadamente 23,000 dalton. La producción y la síntesis de la prolactina son por el control neuroendocrino, primario a través del factor de producción de prolactina y del factor inhibidor de prolactina. Normalmente las mujeres tienen unos niveles basales de prolactina algo más elevados debido a un aumento en lo relacionado con el estrógeno en la pubertad y la correspondiente caída durante la menopausia. Las funciones primarias de la prolactina son la de iniciar el desarrollo de los senos y el de mantener la lactancia aunque está menos involucrada en la función de la función gonadal. Durante el embarazo, los niveles de prolactina se elevan de 10 a 20 veces más que los valores normales y declinan a niveles de no embarazo hacia las 3-4 semanas postparto. Las madres que lactan a sus hijos, mantienen niveles altos de prolactina y puede tomar varios meses el retornar a niveles de no embarazo. La concentración de la prolactina es útil en el diagnóstico de los desórdenes de la pituitaria-hipotalámica. Los micro adenomas (pequeños tumores de la pituitaria) pueden causar hiper-prolactinemia la cual está asociada con la impotencia masculina. Los niveles altos de prolactina están generalmente asociados con la galactorrea y la amenorrea. Se ha demostrado que las concentraciones de prolactina pueden ser aumentadas por los estrógenos, por la hormona de producción tirotrópica (TRH) y muchas drogas que afectan mecanismos dopaminérgicos. Los niveles de prolactina se elevan durante las enfermedades renales e hipotiroidismo y en algunas instancias, se asocia con el stress, el ejercicio y la hipo glicemia. Adicionalmente, la producción de Prolactina es episódica y demuestra variación diurna. Los niveles ligeramente elevados de la prolactina deben ser evaluados teniendo en cuenta estas consideraciones. El aumento de la prolactina puede ser afectado por algunas drogas tales como la clorpromazina y la reserpina y puede disminuirse por la acción de la bromocriptina y la L-Dopa. Las siguientes preparaciones se analizaron como negativas: El HCG (1ª. referencia internacional WHO, preparación 75/537/ a 500.000 mIU/ml, el FSH (2da, referencia internacional WHO Preparación HMG) a 500 mIU/ml, la LH (1ª. referencia internacional WHO preparación 68/40) a 1000 mIU/ml, La TSH 2ª. referencia internacional WHO Preparación 80/558) 500 mIU/ml y la HGH (1a. referencia internacional WHO preparación 65/217) a 1000 ng/ml.

### USO PREVISTO

El PATHOZYME PROLACTIN, es un inmunoanálisis de enzima (EIA) para la determinación cuantitativa de la prolactina en suero humano y es únicamente para uso profesional.

### EL PRINCIPIO DE LA PRUEBA

Los pozos de microtitration son cubiertos con anticuerpos específicos anti-prolactina previamente preparados y purificados. Luego se añade el suero de prueba. Enseguida el monoclonal anti-prolactina etiquetado con enzima de peroxidasa de rábano (conjugada) es aplicado. Si la prolactina humana está presente en la muestra, se combinará con el anticuerpo en el pozo y con el conjugado anti-prolactina dando como resultado que las moléculas de prolactina estén en "sandwich" entre la fase sólida y los anticuerpos ligados de enzima. Después de la incubación, se lavan los pozos para retirar cualquier material no ligado. Al añadir el sustrato (TMB) se desarrollará un color pero únicamente en los pozos en los cuales está presente la enzima indicando con esto la presencia de la prolactina. Seguidamente se detiene la reacción con ácido clorhídrico diluido para proceder de inmediato a medir la absorción a 450 nm. La concentración de la prolactina es directamente proporcional a la intensidad del color de la muestra de prueba. Esta prueba está calibrada con los estándares de la casa y con la 1ª. preparación de referencia de la Organización Mundial de la Salud. (1ª. Referencia WHO IRP 75/504).

<sup>Ref</sup>  
OD427

### CONTENIDO



12 x 8 pozos x 1

<b>Microtitre Plate</b>	12 x 8 pozos x 1
Pozos rompibles cubiertos con anticuerpo específico dentro de una bolsa de hojilla de aluminio con desecante.	
<b>Cal A</b> 0 ng/ml	1 ml
Referencia estándar: Suero humano libre de prolactina. Liofilizado.	
<b>Cal B</b> 5 ng/ml	1 ml
Referencia estándar: Prolactina diluida en suero humano. Liofilizado.	
<b>Cal C</b> 15 ng/ml	1 ml
Referencia estándar: Prolactina diluida en suero humano. Liofilizado.	
<b>Cal D</b> 50 ng/ml	1 ml
Referencia estándar: Prolactina diluida en suero humano. Liofilizado.	
<b>Cal E</b> 100ng/ml	1 ml
Referencia estándar: Prolactina diluida en suero humano. Liofilizado.	
<b>Cal F</b> 200 ng/ml	1 ml
Referencia estándar: Prolactina diluida en suero humano. Liofilizado.	
<b>Conj</b>	11 ml
Conjugado HRP Anti- Prolactina: conjugada a HRP. Listo para su uso (Rosado).	
<b>Subs</b> TMB	11 ml
Solución de sustrato: 3,3', 5,5' Tetrametil bencidina en buffer de citrato. Listo para su uso (Incoloro)	
<b>Soñ</b> Stop HCl 1M	11 ml
Solución de paro: Ácido Clorhídrico diluido en agua purificada. Listo para su uso (Incoloro).	
Hojilla de instrucciones y hoja de registro de datos EIA	1 + 1

### MATERIALES REQUERIDOS PERO NO SUMINISTRADOS

Micro pipetas 100µl, 200 µl and 1000µl  
Puntas de pipeta desechables  
Papel absorbente  
Lector de micro placa con filtro de 450nm.  
Papel gráfico  
Cristalería de laboratorio totalmente limpia.

### PRECAUCIONES

El PATHOZYME PROLACTIN contiene materiales de origen humano los cuales han sido examinados y confirmados como negativo para los anticuerpos HCV, HIV I y II y para el HBSAg usando procedimientos de examen aprobados a nivel de donante sencillo. Ya que ninguna prueba puede ofrecer una seguridad total de que los productos derivados de fuente humana no puedan transmitir agentes infecciosos, se recomienda que los reactivos de este kit sean manejados con cuidado extremo y atención durante su uso y disposición. No los ingiera.

Los reactivos del El PATHOZYME PROLACTIN no contienen sustancias peligrosas según lo definen las regulaciones químicas británicas (Información de peligro y empaque para el suministro). Sin embargo, todos los reactivos deben tratarse como potencialmente bio peligrosos tanto en su uso como en su disposición. La eliminación final debe estar en concordancia con la legislación local.

El PATHOZYME PROLACTIN es ácido clorhídrico diluido, por consiguiente, es altamente corrosivo. Manéjelo con cuidado. En caso de contacto, lave totalmente con agua abundante.

El PATHOZYME PROLACTIN contienen un 1% de Proclin 300\* como preservativo el cual puede ser tóxico si se ingiere. En caso de contacto, lave totalmente con agua corriente y busque atención médica.

\*Proclin® 300 es una marca registrada de ROHM & HAAS Limited.

### ALMACENAMIENTO

Los reactivos deben almacenarse dentro de un rango de temperatura entre los 2°C y los 8°C.

La fecha de vencimiento es el último día del mes y se encuentra marcado en la botella y en la etiqueta del kit. El kit se desempeñará según las especificaciones escritas hasta la fecha de vencimiento determinada, la cual es tomada teniendo en cuenta la fecha de fabricación del producto. No use los reactivos pasada la fecha de vencimiento.

Debe evitarse la exposición de los reactivos a temperaturas extremas ni a luz solar directa.

NO CONGELE LOS REACTIVOS (Excepto los estándares de almacenamiento) ya que esto los hará completamente inservibles.

### RECOLECCIÓN Y PREPARACIÓN DEL ESPECIMEN

Obtenga una muestra de sangre venosa del paciente y permita que se forme un coágulo y que se retraiga. Centrifugue la muestra de sangre coagulada y recolecte el suero claro. Se requieren muestras de suero frescas.

No use suero lipémico ni hemolizado ni contaminado para la prueba ya que estas circunstancias afectaran adversamente los resultados.

El suero puede almacenarse entre los 2°C y los 8°C hasta por 48 horas antes de efectuar la prueba. Si se requiere un almacenamiento más prolongado, almacene a -20° hasta por 1 año. Las muestras derretidas, deben mezclarse completamente antes de efectuar las pruebas. No use como preservativa la Asida de Sodio ya que este producto podrá inhibir el sistema de enzima de peroxidasa. No haga ciclos de congelar-descongelar repetitivos pues esto causará resultados falsos.

### PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

Todos los reactivos deben llegar a temperatura ambiente (20° a 25°C) deben mezclarse totalmente antes de usarlos. No induzca la formación de espuma.

Añada 1 ml de agua destilada a cada ampolla estándar para reconstituir los estándares liofilizados. Déjelos quietos durante por lo menos 20 minutos y luego mezcle suavemente. Almacene a -20°C cuando no se usan. Los estándares rehidratados pueden almacenarse hasta por 30 días a 2°C – 8°C. Para almacenamiento a largo plazo, forme partes alícuotas y congele a -20°C. Congele y descongele solamente una vez. Los estándares descongelados deben mezclarse antes de efectuar el análisis.

### LIMITACIONES DE USO

No se han validado para esta prueba el uso de muestras diferentes a suero. No existe un protocolo de re utilización para este producto. Al efectuar una interpretación de la prueba se recomienda con vehemencia tener en cuenta todos los datos clínicos. No se debe hacer un diagnóstico basado únicamente en los resultados de un solo análisis clínico.

## PROCEDIMIENTO DEL ANÁLISIS

1. Permita que los componentes del kit y el suero de prueba lleguen a temperatura ambiente (20°C a 25°C) antes de efectuar las pruebas.
2. Debe correrse solo un juego de estándares para cada grupo de suero de prueba. Asegure el número deseado de pozos cubiertos en el recipiente. Registre la posición de los estándares y el suero de prueba en la hoja de registro de datos suministrada.
3. Las tiras no usadas deben introducirse en la bolsa de hojilla de aluminio con desecante y sellarse con la cremallera zip-lock antes de colocarse dentro de la temperatura de 2°C a 8°C.
4. Distribuya 50µl de suero de prueba y estándares a los pozos designados.
5. Distribuya 100 µl de Conjugado HRP Anti-prolactina a cada pozo.
6. Mezcle por 10 segundos. Es muy importante mezclar completamente.
7. Incube la placa por 45 minutos a temperatura ambiente (20°C to 25°C).
8. Al terminar el periodo de incubación, elimine el contenido de los pozos sacudiéndolos hacia un contenedor bio peligroso. Enseguida golpee firmemente los pozos contra papel absorbente. Asegure un contenido adecuado de desinfectante presente en el contenedor bio peligroso.
9. Lavado a mano: Llene los pozos con un mínimo de 300 µl de agua destilada por pozo. Sacuda el contenido de la placa hacia un contenedor bio peligroso. Luego golpee firmemente los pozos contra papel absorbente. Lave los pozos vacíos 5 veces.
10. Golpee los pozos firmemente contra papel absorbente o contra una toalla de papel para retirar todo residuo de agua en gotitas.
11. Lavado a máquina: Asegúrese de distribuir 300 µl de agua destilada por cada pozo y que se añada un desinfectante apropiado en la botella de recolección de desperdicio. Lave los pozos vacíos 5 veces. Después del lavado, retire el exceso de líquido golpeando los pozos firmemente contra papel absorbente o contra una toalla de papel para retirar toda agua residual en gotitas.
12. Distribuya 100µl de solución de sustrato a cada pozo y mezcle por 5 segundos.
13. Incube en la oscuridad por 20 minutos a temperatura ambiente (20°C a 25°C).
14. Detenga la reacción añadiendo 100µl de solución de paro a cada pozo.
15. Mezcle suavemente por 30 segundos para asegurar que el color azul cambia a color amarillo.
16. Lea la densidad óptica de forma inmediata y no más tarde de 10 minutos usando un lector de microplaca con un filtro de 450nm.

## SOLUCIÓN DE PROBLEMAS

Para ser usado por operarios con un entrenamiento mínimo de laboratorio.

No use componentes kit dañados ni contaminados

Use una punta desechable por cada muestra para evitar contaminación cruzada.

Aunque no es indispensable, recomendamos duplicar todos los estándares y especímenes.

Deben correrse al mismo tiempo los especímenes y los estándares para mantener las condiciones de prueba iguales. Se recomienda no usar más de 32 pozos en cada análisis si se usa un pipeteo manual ya que el pipeteo de todos los estándares y especímenes debe completarse dentro de 3 minutos. Una placa completa de 96 pozos puede usarse si se usa un pipeteo automático

Tape todos los reactivos inmediatamente después de usarse.

Evite el pipeteo repetido de los agentes almacenados ya que esto puede causar contaminación.

No mezcle los reactivos ni las tiras cubiertas de anticuerpo tomadas de diferentes kits. Al eliminarse, hay que tener mucho cuidado de no tocar la superficie del pozo.

No permita que el reactivo se escurra a los lados del pozo. Antes de empezar el análisis permita que todos los reactivos lleguen a la temperatura ambiente que oscile entre los 20°C y los 25°C. Agite suavemente los reactivos ya sea invitándolos con suavidad o por giro.

Una vez que el análisis se inició, no se debe permitir que los pozos se sequen durante el análisis.

No contamine la solución de sustrato ya que esto inutilizaría todo el kit.

Revise la precisión y exactitud del equipo de laboratorio usado durante el procedimiento para asegurar resultados reproducibles.

Las tiras no usadas deben reintroducirse en la bolsa resellable de hojilla de aluminio con desecante y sellarse usando la cremallera zip-lock y almacenarse a 2°C a 8°C.

## EL CÁLCULO DE LOS RESULTADOS

Calcule el valor de la absorción media (A450) por cada juego de estándares y especímenes. Construya una curva estándar dibujando en un papel gráfico la absorción media de cada estándar contra su concentración en ng/ml. con los valores de absorción en el eje Y y las concentraciones en el eje X. Use los valores de absorción media de cada espécimen para determinar la concentración correspondiente de Prolactina en ng/ml tomados de la curva estándar. Si los niveles de control o de las muestras conocidas de los usuarios no arrojan los resultados esperados, los resultados de las pruebas deben considerarse no válidos. Si usa el paquete de software, escoja una curva de regresión cuadrática.

## VALORES ESPERADOS Y SENSIBILIDAD

La gráfica producida por los calibradores deberá ser de forma hiperbólica con el OD450 de los calibradores y proporcional a su concentración. El OD del calibrador A deberá ser menor que 0.2 y el OD del calibrador F deberá ser mayor que 1.5 para que los resultados del análisis sean válidos.

Cada laboratorio debe establecer sus rangos normales basados en la población de los pacientes. Basados en un número limitado de especímenes de sangre de adultos saludables, las concentraciones medias de la prolactina para hombres (N=90) y mujeres (N=120) se estimó ser 6 y 15 respectivamente. La concentración mínima detectable de la prolactina humana por el **PATHOZYME PROLACTIN** se calculó ser de 2 ng/ml. Las concentraciones de 4,000 ng/ml se han observado usando el **PATHOZYME PROLACTIN** sin prozono (efecto de gancho).

## DATOS EVALUATIVOS

Calibrado con los competidores más importantes y con los estándares de la casa  
El coeficiente de variación del **PATHOZYME PROLACTIN** es menor o igual a un 10%.

Durante la evaluación entre el kit **PATHOZYME PROLACTIN** de Omega y el kit Sero Omega MAIAclone Prolactin para las muestras con niveles entre 1.2 U/ml y 265 ng/ml se generaron los siguientes datos:

Número de muestras	123
Coefficiente de correlación	0.99
Pendiente	0.9344
Intercepción	-2.16
Medio del Omega	23.4 ng/ml
Medio del Sero Omega MAIAclone	22.6 ng/ml

Ambos kits mostraron buena correlación

## REFERENCIAS

1. **Uotila, M., Ruoslahti, E. and Engvall, E. J. Immunol. Methods.** 1981;42:11-15.
2. **Shome, B. and Parlow, A. F. J. Clin. Endocrinol. Metab.** 1977;45:1112-1115.
3. **Cowden, E. A., Ratcliffe, W. A., Beastall, G. H. and Ratcliffe, J. G. Annals Clin. Biochem.** 1979;16:113-121
4. **Frantz, A. G. N. Engl. J. Med.** 1978;298:201-207.
5. **Jacobs, L., Snyder, P., Wilber, J., Utiger, R. and Daughaday, W. J. Clin. Endocrinol.** 1978;33:996.

## REFERENCIA RÁPIDA DEL PROCEDIMIENTO DE PRUEBA

1. Distribuya 50µl de muestras o estándares y 100µl de Conjugado Anti-prolactina a cada pozo y mezcle suavemente por 30 segundos
2. Incube por 45 minutos a temperatura ambiente (20°C a 25°C).
3. Elimine el contenido de los pozos y lave 5 veces con agua destilada
4. Añada 100µl de solución de sustrato. Agite suavemente por 5 segundos.
5. Incube en la oscuridad por 20 minutos a temperatura ambiente (20°C a 25°C).
6. Añada 100µl de solución de paro a cada pozo y agite por 30 segundos.
7. Inmediatamente y no más tarde de 10 minutos, lea las densidades ópticas usando un lector de microplaca con un filtro de 450nm.

8092 ISSUE 3 Revised May 2003 **SPANISH**  
© Omega Diagnostics Ltd., 2003



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