

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

## Test ImunoEnzimatic (EIA) pentru determinarea cantitativă a Prolactinei în serul uman.

### Depozitați la 2°C - 8°C . NU CONGELAȚI.

### Doar pentru diagnostic in-vitro.

#### INTRODUCERE

Prolactina umană (hormonul lactogenic) este secretată atât la bărbați cât și la femei din hipofiza anterioară. Este un hormon polipeptidic cu un singur lanț și o greutate moleculară de aproximativ 23.000 daltoni. Eliberarea și sinteza de Prolactină se face prin control neurendocrin, în principal prin Factorul de Eliberare al Prolactinei și Factorul de Inhibare al Prolactinei. În mod normal, femeile au un nivel bazal ușor mai ridicat de Prolactină, datorită unei creșteri legate de estrogeni la pubertate și o scădere corespunzătoare la menopauză. În principal Prolactina inițiază dezvoltarea sînilor și menține lactația, cu toate că este implicată de asemenea și în supresia funcției gonadale. În timpul sarcinii, nivelurile de Prolactină cresc de 10-20 de ori în comparație cu valorile normale și scad la valorile de dinaintea sarcinii la 3-4 săptămîni postpartum. Mamele care hrănesc la sîn mențin un nivel crescut de Prolactină care poate dura câteva luni pînă cînd revine la nivelurile de dinaintea sarcinii.

Determinarea concentrației de Prolactină este folosită în diagnosticul afecțiunilor hipotalamice – hipofizare. Microadenomale (mici tumori hipofizare) pot determina hiperprolactinemii care se asociază adesea cu impotență masculină. Niveluri mari de Prolactină se asociază adesea cu galactoree și amenoree. Concentrația de prolactină este crescută de estrogeni, hormonul eliberator de tirotropină (TRH) și de câteva medicamente care afectează mecanismele dopaminergice. Nivelurile de Prolactină sunt crescute în boala renală și hipotiroidism și în unele stări asociate cu stress, efort fizic și hipoglicemie. În plus, eliberarea de Prolactină este episodică și are o variație diurnă. Niveluri ușor crescute de Prolactină trebuie să fie evaluate lînd în considerare și aceste stări. Creșterea nivelului de Prolactină poate fi secundară administrării unor medicamente precum clorpromazina și rezerpina și poate fi scăzută de bromocriptină și L-Dopa.

Concentrația minim detectabilă de prolactină cu **PATHOZYME PROLACTIN** este estimată a fi de 2ng/ml. Următoarele preparate au fost testate ca negative: HCG (Primul Preparat de Referință Internațional OMS 75/537) la 500.000 mU/ml, FSH (Al doilea Preparat de Referință Internațional OMS, HMG) la 500 mU/ml, LH (Primul Preparat de Referință Internațional OMS 68/40) la 1.000 mU/ml, TSH (Al doilea Preparat de Referință Internațional OMS 80/558) la 500 mU/ml și HGH (Primul Preparat de Referință Internațional OMS 65/217) la 1.000 ng/ml.

#### UTILIZARE

**PATHOZYME PROLACTIN** este un test imunoenzimatic (EIA) pentru determinarea cantitativă a Prolactinei în serul uman.

#### PRINCIPIUL TESTULUI

Anticorpii specifici anti-Prolactină sunt pregătiți, purificați și fixați de godeurile de microtitrare. Se aplică serul de testat. Se adaugă apoi anticorpii monoclonali anti-Prolactină marcați cu Peroxidază de Hrean (Conjugat). Dacă în probă este prezentă prolactină umană, se va combina cu anticorpii de pe peretele godeului și cu Conjugatul, dînd naștere unui complex de tip sandwich în care molecula de Prolactină este fixată între faza solidă și anticorpii marcați cu enzimă. După incubare, materialul nelegat este spălat. La adăugarea substratului (TMB), va apare o culoare doar în godeurile în care este prezentă enzima, ceea ce indică prezența Prolactinei. Reacția este oprită prin adăugarea de acid clorhidric diluat iar absorbanta este apoi măsurată la 450nm. Concentrația de Prolactină este direct proporțională cu intensitatea culorii din proba de testat. Testul a fost calibrat cu standarde interne și cu Primul Preparat de Referință Internațional OMS (WHO 1st IRP 75/504).

#### CONȚINUT

<sup>Ref</sup>  
OD427



Microtitre Plate		12 x 8 godeuri x 1
Cal	A	0 ng/ml
Standard Referință: Ser uman fără Prolactină. Liofilizat.		
Cal	B	5 ng/ml
Standard Referință: Prolactină diluată în ser uman. Liofilizat.		
Cal	C	15 ng/ml
Standard Referință: Prolactină diluată în ser uman. Liofilizat.		
Cal	D	50 ng/ml
Standard Referință: Prolactină diluată în ser uman. Liofilizat.		
Cal	E	100ng/ml
Standard Referință: Prolactină diluată în ser uman. Liofilizat.		
Cal	F	200 ng/ml
Standard Referință: Prolactină diluată în ser uman. Liofilizat.		
Conj		11ml
Conjugat Anti-Prolactină HRP: Anti- Prolactină conjugată de HRP. Gata de lucru (Roz)		
Subs	TMB	11 ml
Soluție Substrat: 3,3', 5,5' Tetrametil Benzidină în tampon citrat. Gata de lucru. (Incolor)		
Solin	Stop	HCl
		1M
Soluție Stopare: Acid clorhidric diluat în apă purificată. Gata de lucru. (Incolor)		

Broșură instrucțiuni și Fișa de înregistrare date EIA 1 + 1

#### MATERIALE NECESARE DAR CARE NU SUNT PREZENTE ÎN KIT

Micropipete: 100µl, 200µl și 1000µl  
Vîrfuri de pipetă de unică folosință  
Hîrtie absorbantă  
Cititor microplăci cu filtru de 450nm.  
Hîrtie pentru grafic (milimetrică)  
Sticlărie de laborator foarte curată.

#### PRECAUȚIUNI

**PATHOZYME PROLACTIN** conține materiale de origine umană care au fost testate și confirmate negative prin proceduri aprobate de FDA pentru anticorpi HCV, HIV 1 și II și pentru HbsAg, la nivel de donor unic. Deoarece nici un test nu poate oferi o depozitare completă că produsele derivate din surse umane nu vor transmite agenți infecțioși, se recomandă ca reactivii din acest kit să fie manipulați cu grijă și atenția corespunzătoare atît în timpul utilizării cit și sunt deșeurii. Nu ingerați.

Reactivii **PATHOZYME PROLACTIN** nu conțin substanțe periculoase așa cum sunt definite de legislația Chimică a Marii Britanii (Informații și Ambalare substanțe periculoase pentru Furnizare). Toți reactivii trebuie totuși tratați ca substanțe cu potențial risc biologic atît cînd sunt folosite cit și cînd sunt deșeurii. Rezolvarea finală a deșeurilor trebuie făcută în conformitate cu legislația locală.

Soluția de Stopare **PATHOZYME PROLACTIN** este acid clorhidric diluat și este deci coroziv. Manipulați cu grijă. În caz de contact cu tegumentul spălați cu grijă cu apă.

Reactivii **PATHOZYME PROLACTIN** conțin Proclin™ 300\* în concentrații de 1% ca și conservant. Este toxică atunci cînd este ingerată. În caz de contact, spălați bine cu apă de la robinet și consultați un medic.  
\* Proclin™ 300 este o marcă înregistrată a ROHM & HAAS Limited.

#### DEPOZITARE

Reactivii trebuie depozitați la temperaturi de 2°C - 8°C.

Data expirării este ultima zi a lunii menționate pe eticheta recipientului și pe ambalajul kit-ului. Performanța kit-ului va fi cea specificată pînă la data expirării menționată așa cum este determinată de la data producerii și după cum este menționat pe kit și componentele acestuia. Nu folosiți reactivii după data expirării.

Evitați expunerea reactivilor la temperatură excesivă. Nu expuneți reactivii la lumina directă a soarelui.

NU CONGELAȚI NICI UN REACTIV (cu excepția depozitării standardelor) deoarece acesta va fi iremediabil alterat.

#### RECOLTAREA ȘI PREGĂTIREA PROBEI

Recoltați o probă de sînge venos de la pacient și lăsați să se formeze și retracte cheagul. Centrifugați proba de sînge coagulat și colectați serul limpede. Este nevoie de ser proaspăt.

Nu folosiți pentru testare ser hemolizat, contaminat sau lipemic deoarece aceasta va influența nedorit rezultatele.

Serul poate fi depozitat la 2°C - 8°C timp de 48 de ore înainte de testare. Dacă este nevoie de depozitare pe durată mai lungă, puteți păstra serul la -20°C pe o durată de 1 an. Probele decongelate trebuie amestecate bine înainte de a fi utilizate.

Nu folosiți ca și conservant Azida sodică deoarece aceasta va inhiba sistemul enzimatic Peroxidază.

Nu congelați-decongelați în mod repetat probele – veți obține rezultate false.

#### PREGĂTIREA REACTIVILOR

Toți reactivii trebuie lăsați să ajungă la temperatura camerei (20°C-25°C) și amestecați ușor înainte de utilizare. Evitați formarea spumei.

Adăugați 1ml de apă distilată în fiecare flacon de standad pentru a reconstitui standardele liofilizate. Lăsați în repaus cel puțin 20 de minute și apoi amestecați ușor. Păstrați la -20°C cînd nu folosiți. Standardele rehidratate pot fi păstrate 30 de zile la 2°C - 8°C. Pentru o depozitare mai îndelungată fracționat și congelați la -20°C. Congelați doar o dată. Standardele dezghețate trebuie amestecate înainte de testare.

#### LIMITELE UTILIZĂRII

Folosirea altor tipuri de probe, altele decît serul nu a fost validată pentru acest test. Nu există protocol de reutilizare pentru acest produs.

Atunci cînd faceți interpretarea testului este recomandat să luați în considerare toate datele clinice. Diagnosticul nu trebuie să fie stabilit doar pe baza rezultatelor unui singur test clinic.

## PROCEDURA DE TESTARE

1. Aduceți toate componentele kit-ului și serul de testat la temperatura camerei (20°C-25°C) înainte de a începe testarea.
2. Se recomandă rularea unui set de standarde la fiecare procesare de probe. Fixați numărul dorit de godeuri în stativ. Înregistrați poziția standardelor și a serului de testat pe Fișa de Înregistrare a Datelor EIA.
3. Stripurile nefolosite trebuie resigilate în punga de folie conținând desicant și plasate apoi la 2°C - 8°C.
4. Pipetați 50μl de Standarde și de ser de testat în godeurile stabilite.
5. Pipetați 100μl de Conjugat Anti-Prolactină în fiecare godeu.
6. Amestecați 10 de secunde. Este foarte important să amestecați complet.
7. Incubați placa timp de 45 de minute la temperatura camerei (20°C-25°C).
8. La sfârșitul perioadei de incubare, aruncați conținutul godeurilor răsturnând brusc conținutul plăcii cu partea superioară în jos deasupra unui container de deșeuri cu risc biologic și apoi loviți placa (cu partea superioară în jos) pe o bucată de hirtie absorbantă. Aveți grijă ca în recipientul pentru deșeuri să se afle un dezinfectant corespunzător.
9. Spălare Manuală. Umpleți godeurile cu minimum 300μl de apă distilată pentru fiecare godeu.
10. Întoarceți brusc placa deasupra recipientului de deșeuri biologice. Loviți placa de hirtie absorbantă. Spălați godeurile goale de 5 ori.
11. Loviți din nou placa (cu partea superioară în jos) de o bucată de hirtie absorbantă pentru a îndepărta toate picăturile de apă reziduală.
12. Spălare Automată: controlați ca 300μl de apă distilată să fie pipetați în fiecare godeu și ca în recipientul cu deșeuri să fie adăugat un dezinfectant potrivit. Spălați godeurile de 5 ori. După ce spălați îndepărtați excesul de lichid lovind placa inversată de o hirtie absorbantă.
13. Pipetați 100μl de Soluție Substrat în fiecare godeu și amestecați ușor timp de 5 secunde.
14. Incubați la întuneric timp de 20 de minute la temperatura camerei (20°C-25°C).
15. Opriti reacția adăugând 100μl de Soluție de Stopare în fiecare godeu.
16. Amestecați ușor timp de 30 de secunde pentru a asigura virarea completă a culorii albastre în galben.
17. Citiți imediat densitatea optică (până în 10 minute) folosind un cititor de microplăci cu un filtru de 450nm.

## EVITAREA ERORILOR

Poate fi folosit de personalul cu minimă pregătire bazică de laborator.

Nu folosiți componente ale kit-ului care sunt deteriorate sau contaminate.

Folosiți un vîrf de pipetă de unică folosință pentru fiecare probă pentru a preveni contaminarea încrucișată.

Deși nu este necesară se recomandă rularea probelor și standardelor în duplicat.

Probele și standardele trebuie rulate simultan pentru a avea condiții de testare similare.

Se recomandă să nu folosiți mai mult de 32 de godeuri odată atunci cînd pipetați manual, deoarece pipetarea Standardelor și probelor trebuie să fie completă în decurs de 3 minute. Se poate folosi o placă completă de 96 de godeuri doar dacă este disponibilă pipetarea automată.

Puneți la loc capacul pe recipientele cu reactivi imediat după utilizare.

Evitați pipetarea repetată din reactivii de stoc, deoarece se poate produce contaminare.

Nu amestecați reactivii sau stripurile provenind de la kit-uri diferite. Atunci cînd pipetați aveți grijă să nu atingeți suprafața godeului. Nu pipetați reactivul pe partea laterală a godeului. Înainte de începutul testării, lăsați reactivii să ajungă la temperatura camerei (20° - 25°C). Amestecați ușor toți reactivii cu mișcări blinde de rotație.

Odată testarea pornită, godeurile nu trebuie să se usuce în cursul derulării testului.

Nu contaminați Soluția Substrat deoarece kit-ul va deveni nefuncțional.

Controlați precizia și acuratețea echipamentului de laborator folosit în timpul procedurii pentru a asigura rezultate reproductibile.

Strip-urile nefolosite ar trebui re-sigilate în punga de folie care conține desicant și apoi depozitate la 2°C - 8°C.

## CALCULAREA REZULTATELOR

Calculați valoarea absorbanței medii ( $A_{550}$ ) pentru fiecare set de standarde și probe. Creați o curbă standard făcînd un grafic cu absorbanta medie pentru fiecare Standard în funcție de concentrația în ng/ml pe hirtie milimetrică, cu valorile absorbantei pe axa Y și concentrațiile pe axa X.

Folosiți valorile absorbantei medii pentru fiecare probă pentru a determina concentrația corespunzătoare de Prolactină în ng/ml din curba standard.

Dacă nivelurile controalelor sau ale probelor cu valori cunoscute nu dau rezultatele scontate, rezultatele testului trebuie considerate invalide.

Dacă folosiți un pachet software alegeți o curbă de regresie quadratică care să se potrivească.

## VALORI PREDICȚIONATE ȘI SENSIBILITATE

Graficul produs de calibratori trebuie să aibă o formă hiperbolică cu densitatea optică (DO) citită la 450 nm proporțională cu concentrația lor. DO a calibratorului A trebuie să fie mai mică de 0,75 iar DO a calibratorului F mai mare de 1,5 pentru ca rezultatele testului să fie valide.

Fiecare laborator trebuie să stabilească propriul domeniu de valori normale plecînd de la populația de pacienți. Folosind un număr limitat de probe de sînge de la adulți sănătoși, media concentrațiilor de Prolactină pentru bărbați (N=90) și femei (N=120) sunt estimate a fi de 6 și respectiv 15ng/ml. Concentrația minim detectabilă de Prolactină umană cu **PATHOZYME PROLACTIN** este estimată a fi de 2 ng/ml.

## DATE DE EVALUARE

Calibrat cu competitori importanți și cu standarde interne.

Coefficientul de variație al **PATHOZYME PROLACTIN** este mai mic sau egal cu 10%.

În cursul unei evaluări între **PATHOZYME PROLACTIN** produs de Omega și Sero **MAIAclone** Prolactin pentru probe cu niveluri între 1,2 și 265,9ng/ml au fost generate următoarele date.

Număr de Probe	123
Coefficient de Corelare	0,99
Pantă	0,9344
Intercept	-2,16
Medie Omega	23,4ng/ml
Media Sero <b>MAIAclone</b>	22,6ng/ml

Între aceste kit-uri există o bună corelație.

## BIBLIOGRAFIE

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. Endocrin.** 1978;33:996.

## GHID RAPID AL PROCEDURII DE TESTARE

1. Pipetați 50μl de standarde sau probe și 100μl de Conjugat Anti-Prolactină în fiecare godeu și amestecați bine timp de 10 secunde.
2. Incubați 45 de minute la temperatura camerei (20°C-25°C).
3. Aruncați conținutul godeurilor și spălați de cinci ori cu apă distilată.
4. Adăugați 100μl de Soluție Substrat în fiecare godeu și amestecați ușor 5 secunde.
5. Incubați la întuneric 20 de minute la temperatura camerei (20°C-25°C).
6. Adăugați 100μl de Soluție de Stopare în fiecare godeu și amestecați ușor 30 de secunde.
7. Citiți imediat Densitatea Optică (nu mai târziu de 10 minute) folosind un cititor de microplăci cu un filtru de 450nm.

8092 ISSUE 3 Revised May 2003 **ROMANIAN**  
© 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