

### INDICACIONES DE USO

Prueba para la detección cuantitativa de prolactina en suero humano. Agente de diagnóstico in vitro para uso exclusivo de laboratorio clínico o de gabinete.

### RESUMEN Y APLICACIÓN

La prolactina humana (hormona lactogénica) es una hormona proteica de cadena simple con un peso molecular de aproximadamente 23,000 daltons. La prolactina es secretada por la parte anterior de la glándula hipófisis tanto en hombres como mujeres, las mujeres normalmente tienen mayores concentraciones basales normales que los hombres. Durante y después del embarazo, la prolactina se asocia con otras hormonas, estimulan el desarrollo de mamas y la producción de leche. La hipersecreción de prolactina puede estar causada por tumores en la hipófisis, enfermedades del hipotálamo, hipotiroidismo, falla renal, ejercicio intenso y algunos medicamentos. La hipoprolactemia está indicada por hipogonadismo en hombres en mujeres va acompañada de bajas concentraciones de FSH y LH.

### DESCRIPCIÓN

La prolactina ELISA es un método en fase sólida sándwich directo. Las muestras, y diluyentes anti HRP prolactina son agregados a los pocillos recubiertos con MAb para prolactina. La prolactina en el suero del paciente se une a la anti-prolactina MAb del micropozo y el HRP anti-prolactina se une con la prolactina. Proteínas no unidas con el conjugado HRP son lavados por la solución de lavado. Tras la adición del sustrato la intensidad del color es proporcional a la concentración de la prolactina.

MATERIALES PROVISTOS	96 pruebas
1. Placa con 96 pozos	1
2. Estandares 6 viales	0.5ml
3. Reactivo de enzima conjugada 1 vial	12 ml
4. Solución TMB: 1 vial	12ml
5. Solución de Frenado: 1 vial	12ml
6. Solución de Lavado Concentrado 20X: 1 vial	25ml

### MATERIALES REQUERIDOS PERO NO PROVISTOS

1. Agua destilada o desionizada.
2. Pipetas de precisión.
3. Puntas de pipetas desechables.
4. Lector Microelisas con lente a 450nm de longitud de onda con una banda de amplitud de 10nm o menor y un rango de densidad óptica de 0-2 OD o mayor.
5. Papel absorbente o toalla de papel.
6. Papel cuadrículado.

### ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

1. Almacene el kit a una temperatura de entre 2°C a 8°C.
2. Mantenga las tiras de los pocillos selladas en la bolsa de aluminio.
3. Todos los compuestos son estables hasta su fecha de expiración siempre y cuando las condiciones de almacenaje sean estrictamente llevadas a cabo como aquí se indica.
4. No exponga los reactivos al calor, luz solar o intensa luz eléctrica.

### ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

1. Potencial de los materiales de riesgo biológico: Los calibradores contienen componentes de origen humano, que se han sido probados y encontrados no reactivos para el antígeno de superficie de hepatitis B y anticuerpos contra el VIH Aprobado por la FDA. Sin embargo, no hay método de prueba que puede ofrecer completa seguridad de que el virus VIH, Hepatitis B u otros agentes infecciosos estén presentes. Estos reactivos deben ser manejados según el Nivel de Bioseguridad 2, como se recomienda en los Centros para el Control de Enfermedades / Institutos Nacionales de Salud manuales. "Bioseguridad en laboratorios microbiológicos y biomédicos" 1984.
2. No pipetee con la boca. No fume, coma, o beba en el área donde maneje este equipo.
3. Los componentes en este equipo son para uso como una unidad integral. Los componentes de diferentes lotes no se deben mezclar.
4. Es recomendable que los estándares, controles y muestras de suero se corran por duplicado.
5. Para obtener óptimos resultados, debe apegarse estrictamente al protocolo. Pipeteado exacto y preciso, así como después de la hora exacta y requerimientos de temperatura prescritos son esenciales. Cualquier desviación de este pueden dar datos no válidos.

### RECOLECCIÓN DE LA MUESTRA

1. Recolecte sangre por venopunción y separe el suero de inmediato.
2. En caso de no llevar a cabo el examen inmediatamente, refrigere la muestra a (2-8° C) por cinco días. En caso de exceder dicho plazo, congele a -20° C hasta un mes.
3. Evite múltiples ciclos de congelamiento-descongelamientos de la muestra.
4. Previo al ensayo, la muestra deberá ser debidamente descongelada y mezclada.
5. Evite utilizar muestras con exceso de lípidos.

### PREPARACION DEL REACTIVO

1. Todos los reactivos deberán ser traídos a la temperatura ambiente (18°-25°C) antes de su uso.
2. Preparar solución de lavado a 1x adicionando 475ml de agua destilada o desionizada al frasco de (25ml a 20x).

### PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

Previo al ensayo, permita que todos los reactivos alcancen la temperatura ambiente (18°-26°C). Mezcle suavemente los reactivos antes de su uso.

1. Corte el número de pozos a utilizar. Cierre y selle el resto de los micropocillos no utilizados y refrigérelos a 2-8° C.
2. Vierta 25 µl de estándares de Prolactina, especímenes y controles en los pozos apropiados.
3. Vierta 100 µl de solución enzima conjugada en todos los pocillos.
4. Cubra e incube a temperatura ambiente por 60 minutos (18-26°C).
5. Retire el líquido de los pocillos. Enjuague y lave los pocillos tres veces con 300 µl de solución de lavado de 1X. Golpee la placa de los micropocillos sobre el papel absorbente para remover las gotas de agua residuales.
6. Vierta 100 µl de reactivo TMB a todos los pocillos.
7. Incube a temperatura ambiente por 15 minutos.
8. Frene la reacción agregando 50 µl de solución de frenado a cada pozo. Sacuda gentilmente para facilitar el mezclado de la solución.
9. Lea la densidad óptica a 450 nm con un lector de placa de micro valoración en un plazo de 15 minutos después de haber agregado la solución de frenado.

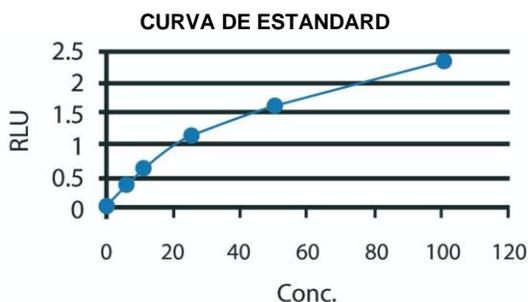
## CÁLCULO DE RESULTADOS

La curva estándar se construye de la siguiente manera:

1. Compruebe el valor estándar de Prolactina en el vial estándar. Este valor puede variar de lote a lote. Asegúrese de verificar el valor de cada kit. Véase el ejemplo de la norma adjunta.
2. Para construir la curva estándar, trazar la absorbancia para el estándar de Prolactina (eje vertical) frente a las concentraciones estándar de Prolactina (eje horizontal) en un papel gráfico lineal. Dibuje la mejor curva a través de los puntos.
3. Leer la absorbancia de los controles y cada muestra desconocida de la curva. Registre el valor de cada control o muestra desconocida.

### Ejemplo de Curva Standard

	OD 450nm	Conc. ng/mL
Std1	0.037	0
Std2	0.363	5
Std3	0.648	10
Std4	1.181	25
Std5	1.647	50
Std6	2.353	100



## VALORES ESPERADOS Y SENSIBILIDAD

Se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios rangos normales sobre la base de una muestra representativa de la población local. Los siguientes valores de Prolactina pueden usar rangos utilizados solo como guía:

### LIMITACIONES DE LA PRUEBA

1. Los resultados obtenidos mediante la utilización de este kit sirven solo como ayuda en el diagnóstico y deben ser interpretados en relación a la historia clínica del paciente, síntomas y otros procedimientos de diagnóstico.
2. No utilice ácido de sodio como preservante ya que inhibe la actividad de la enzima HRP.

### PERFORMANCE

#### 1. Correlación con un kit ELISA de referencia:

Un total de 110 muestras de suero fueron analizadas utilizando el presente kit ELISA y otro kit de referencia. Fueron obtenidos los siguientes resultados:

Correlación	Pendiente	Intercepción
0.86	1.96	4.81

#### 2. Precisión:

##### Intra Ensayo

Suero	No. de Réplicas	Media mIU/ml	Desvío Estandar	Coefficiente de Variación (%)
1	16	33.2	2.27	6.8
2	16	15.7	0.75	4.8
3	16	4.2	0.24	5.8

### Inter Ensayo

Suero	No. de Réplicas	Media mIU/ml	Desvío Estandar	Coefficiente de Variación (%)
1	10	30.5	2.7	6.9
2	10	14.5	0.98	6.7
3	10	4.3	0.3	6.9

### LIMITACIONES DE LA PRUEBA

1. Los resultados obtenidos mediante la utilización de este kit sirven solo como ayuda en el diagnóstico y deben ser interpretados en relación a la historia clínica del paciente, síntomas y otros procedimientos de diagnóstico.
2. No utilice ácido de sodio como preservante ya que inhibe la actividad de la enzima HRP.

#### 3. Sensibilidad:

La sensibilidad de esta prueba fue al calcular la media más dos desvíos estándar del punto de estándar cero, veinte veces en la misma prueba.

Suero	No. de Réplicas	Media mIU/ml	Desvío Estandar	Media + 2SD (Sensibilidad)
Zero Standard	20	0.126	0.208	0.334

#### 4. Recuperación:

Cantidades controladas de FSH fueron agregadas al suero con una baja concentración de FSH.

Valor Esperado(mIU/ml)	Recupero (mIU/ml)	Porcentaje de recupero
5	4.8	96
15	15.5	103.3
30	32	106.7

#### 5. Linealidad:

Suero	Valor Original (mIU/ml)	Porcentaje de Recuperación		
		1:2	1:4	1:8
1	60	102	98	92
2	50	105	97	93

## REFERENCIAS

1. Vanderpump MP; French JM; Appleton D; Tunbridge WM; Kendall-Taylor P. The prevalence of hyperprolactinaemia and association with markers of autoimmune thyroid disease in survivors of the Whickham Survey cohort. Clin Endocrinol (Oxf) 1998; 48(1):39-44.
2. Straub RH; Zeuner M; Lock G; Schömlerich J; Lang B. High prolactin and low dehydroepiandrosterone sulphate serum levels in patients with severe systemic sclerosis. Br J Rheumatol 1997; 36(4):426-32.
3. Neidhart M. Elevated serum prolactin or elevated prolactin/cortisol ratio are associated with autoimmune processes in systemic lupus erythematosus and other connective tissue diseases. J Rheumatol 1996; 23(3):476- 81.
4. Neidhart M Serum levels of interleukin-1 beta, luteinizing hormone, and prolactin correlate with the expression of CD45 isoforms on CD4+ peripheral blood T lymphocytes in healthy women. Ann Hematol 1997; 75(4):155-9.
5. Maes M; Mommen K; Hendrickx D; Peeters D; D'Hondt P; Ranjan R; De Meyer F; Scharp'e S. Components of biological variation, including seasonality, in blood concentrations of TSH, TT3, FT4, PRL, cortisol and testosterone in healthy volunteers. Clin Endocrinol (Oxf) 1997; 46(5):587-98.