

INDICACION DE USO

El equipo prolactina (PRL) se utiliza para la determinación cuantitativa de la concentración de PRL en suero humano.

Para uso de diagnóstico in vitro. Para uso exclusivo en laboratorio clínico o de gabinete.

RESUMEN Y APLICACION

La Prolactina humana (hormona lactogénica) es secretada por la glándula pituitaria anterior tanto en varones como en mujeres. La prolactina humana es una hormona polipeptídica de cadena simple con un peso molecular de 23,000 Daltons aproximadamente. La liberación y síntesis de la prolactina está bajo control neuroendocrinal, principalmente bajo el factor de liberación de prolactina y el factor de inhibición de prolactina. Las mujeres normalmente tienen niveles básicos de prolactina ligeramente más elevados que los varones; aparentemente existe un incremento relacionado con el estrógeno durante la pubertad y un decrecimiento en la menopausia. La función primaria de la prolactina son el iniciar el desarrollo de los pechos y mantener la lactancia. La prolactina también suprime la función gonadal. Durante el embarazo, los niveles de prolactina incrementan progresivamente entre 10 y 20 veces con relación de los niveles normales, regresando a los niveles de no embarazo dentro de 3 – 4 semanas después del parto. Las madres en la etapa de lactancia mantienen altos niveles de prolactina y podría tomar varios meses para que las concentraciones séricas regresen a los niveles normales de no embarazo. La determinación de la concentración de la prolactina es útil para el diagnóstico de desórdenes del hipotálamo y la pituitaria. Micro adenomas (pequeños tumores en la pituitaria) pueden causar hiperprolactinemia, la cual está asociada algunas veces con la impotencia varonil. Altos niveles de prolactina están comúnmente asociados con galactorrea y amenorrea. Las concentraciones de prolactina han demostrado ser incrementadas por estrógenos y hormona de liberación de Tirotropina (TRH) y varias drogas, afectando el mecanismo dopaminérgico. Los niveles de prolactina se elevan en caso de enfermedades renales, hipotiroidismo y en algunas situaciones de estrés, durante el ejercicio y por hipoglucemia. Adicionalmente, la liberación de prolactina es periódica y demuestra variación diurna. Concentraciones ligeramente elevadas de prolactina deben de ser evaluadas bajo estas consideraciones. Las concentraciones de prolactina se pueden incrementar por el uso de drogas como clorpromazina y reserpina y pueden ser disminuidos por bromocriptina y L-dopa.

DESCRIPCION

El equipo de Prolactina (PRL) CLIA es un inmunoensayo para quimioluminiscencia (CLIA), para la determinación cuantitativa de la concentración de prolactina (PRL) en suero humano.

CONTENIDO

Equipo para 96 pruebas

1. Placa recubierta con anticuerpos monoclonales contra Prolactina (anti-PRL) 1 placa, 96 pozos.
2. Reactivo de enzima conjugada: (2 viales, 6 ml. cada uno).
3. Estándares de Referencia: 50,150,500,1000,3000µIU/mL (5 viales liofilizados).
4. Sustrato A: (1 vial, 6 ml.).
5. Sustrato B: (1 vial, 6 ml.).
- 6.- Control 1: liofilizado.
- 7.- Control 2: liofilizado.
- 8.- PBS-T en polvo (buffer de Lavado) 2 bolsas con 5 grs. Cada una.
- 9.- 1 bolsa zip-lock.
- 10.- 2 piezas de papel auto-adherible.
- 11.- Instruccion de uso.

MATERIALES REQUERIDOS, PERO NO SUMINISTRADOS

1. Pipetas de precisión.
2. Agua destilada.
3. Vórtex mezclador.

4. Papel absorbente o una toalla de papel.
5. Papel cuadrulado logaritmico.
6. Luminómetro.

RECOLECCIÓN Y PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

1. La sangre debe extraerse usando técnicas estándar de venopunción y el suero debe ser separado de los glóbulos rojos tan pronto como sea posible. Evite muestras excesivamente hemolizadas, lipémicas o turbias.
2. Las muestras deberán ser niveladas y se pueden almacenar hasta 48 horas de 2-8 °C, antes del ensayo. Los especímenes retenidos para un tiempo más largo pueden ser congelados a -20°C. Los especímenes deben ser mezclados antes de la prueba.

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

1. Para uso diagnóstico in vitro solamente.
2. El Manejo de reactivos y las muestras de suero deben estar de acuerdo con los procedimientos de seguridad local.
3. Los calibradores contienen componentes de origen humano, que se han probado y no reaccionan para el antígeno de superficie de hepatitis B, así como tampoco contra anticuerpos anti-VIH. Todos los productos de origen animal y sus derivados han sido recogidos de animales sanos. Los componentes bovinos son originarios de países en los que la EEB no se ha presentado, sin embargo, los estándares de referencia y componentes que contienen sustancias animales deben ser tratados como potencialmente infecciosos.
4. Evitar cualquier contacto con la piel.
5. No fumar, comer, beber o aplicar cosméticos en la zona de trabajo. No pipetear con la boca. Use ropa protectora y guantes desechables.

ALMACENAMIENTO DE EQUIPO E INSTRUMENTACIÓN

1. Almacene todos los componentes de 2°C -8°C. No lo congele. Evitar la luz intensa.
2. Colocar los pocillos no utilizados en la bolsa zip-lock con desecante proporcionado y mantener de 2-8°C, condiciones en que los pozos se mantendrán estables durante 2 meses, o hasta la fecha de caducidad marcada, lo que ocurra primero.
3. Almacene los calibradores reconstituidos de 2-8°C, condiciones en que los reactivos se mantendrán estables durante 2 meses. Para usar por más tiempo los calibradores, almacene en alícuotas y congelar a -20°C, evite múltiples ciclos de congelamiento y descongelamiento.
4. Selle y devuelva todos los reactivos no utilizados a 2-8°C, condiciones en que se mantendrá la estabilidad durante 2 meses, o hasta la fecha de caducidad marcada, lo que ocurra primero.

PREPARACIÓN DEL REACTIVO

1. Mantener los reactivos a temperatura ambiente antes de su uso durante al menos 30 minutos. Mezclar todos los reactivos por inversión suavemente. No provocar la formación de espuma.
2. Ajustar la incubadora a 37 grados.
3. Reconstituir cada calibrador liofilizado con 1 mL de agua destilada. Mezclar bien con un Vórtex antes de su uso.
4. Reconstituir cada control con 1 mL de agua destilada y mezclar bien con Vórtex durante 1 minuto. Permita que el material reconstituido repose durante al menos 10 minutos.
5. Para preparar Buffer de Lavado: añadir una bolsa de PBS-T en polvo a 500 mL de agua destilada y mezclar. El buffer de lavado es estable a temperatura ambiente durante dos meses.
6. Determinar la cantidad de solución de sustrato necesario y preparar mezclando volúmenes iguales de sustrato A y B en un recipiente limpio. Por ejemplo, añadir 1 mL de sustrato A y 1 mL de sustrato B por 2 tiras de ocho pocillos (quedara un ligero exceso de material preparado). Deseche la porción no utilizada si no se utiliza dentro de 20 minutos después de la mezcla.

PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

1. Asegure el número deseado de revestimiento de pozos en el receptor. Dispensar 25 µl de Estándares, muestras, y los controles en los pocillos apropiados.
2. Dispensar 100 µl de Enzima Conjugada en cada pocillo. Mezclar suavemente durante 30 segundos.
3. Cubrir la placa con papel adhesivo blanco, incubar a 37°C durante 60 minutos.
4. Agregue 350 µl de solución de lavado a cada pozo, retire y repita 4 veces más el mismo procedimiento, para un total de 5 lavados. Golpee los pozos energicamente sobre papel absorbente para eliminar las gotas de agua residual.
5. Añada 100 µl de la solución de sustrato a cada pocillo y mezclar por 10 segundos.
6. Incube a temperatura ambiente en la oscuridad 5 minutos sin agitar y leer los valores de RLU con un Luminómetro.

NOTAS IMPORTANTES

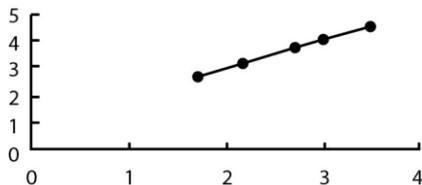
1. El procedimiento de lavado es fundamental. La insuficiencia de lavado se traducirá en mala precisión y lecturas de absorbancia falsamente elevadas.
2. Se recomienda que no más de 32 pozos sean utilizados para cada ensayo, si el pipeteado es manual, ya que los estándares, muestras y controles deben ser completado dentro de 5 minutos. Una placa de 96 pocillos puede utilizarse si el pipeteado es automático.
3. La duplicación de todos los estándares y especímenes, aunque no es obligatorio, se recomienda.

CÁLCULO DE RESULTADOS

Construya una curva estándar trazando el RLU obtenido a partir de cada Standard de referencia en contra de su concentración en µIU/ml en papel logarítmico cuadrículado, con valores RLU en la vertical o eje Y las concentraciones en la horizontal o eje X. Utilice los valores de RLU de cada muestra para determinar la concentración correspondiente de la PRL en µIU/ml de la curva estándar. Cualquier espécimen diluido debe ser corregido por el factor de dilución apropiado.

EJEMPLO DE CURVA ESTÁNDAR

PRL (µIU/ml)	RLU
50	526.924
150	1532.12
500	5799.25
1000	11418.2
3000	33270.9



VALORES DE REFERENCIA

Cada laboratorio debe establecer sus propios rangos normales sobre la base de población de pacientes. Los resultados mostrados abajo fueron tomados en un laboratorio con muestras de pacientes tomadas al azar.

Hombres	42.5 ~ 414.0 µIU/ml
Mujeres	51.0 ~ 580.0 µIU/ml

PERFORMANCE

1.- Sensibilidad analítica:

El límite de detección se calcula a partir de la curva estándar mediante la identificación de la concentración correspondiente a la media de RLU del diluyente estándar (basado en 10 análisis repetidos) más 2 SD. Por lo tanto, la sensibilidad de la prueba PRL CLIA no es mayor que 25µIU/ml.

2. Especificidad:

No se detectó interferencia con el desempeño de PRL CLIA con la adición de grandes cantidades de las sustancias enlistadas con las concentraciones siguientes:

Inferencia	Concentración (µIU/ml)
HGH	3.05
HPL	49.3

3. Precisión:

Intra-ensayo

Se determinó analizando 10 repeticiones de dos sueros humanos con un lote de reactivo.

Miembro del panel	Lote	n	Media	SD	%CV
1	1	10	267.32	5.64	2.11
2	1	10	673.79	17.01	2.52

Inter-ensayo

Basado en dos miembros de un panel, usando 3 lotes de reactivos, con dos replicas, una vez por día a través de 20 días de prueba.

Miembro del panel	n	Media	SD	%CV
1	120	192.99	20.17	10.45
2	120	717.07	76.89	10.72

REFERENCIAS

1. Evans AM, Petersen JW, Sekhon GS, DeMars R. Mapping of prolactin and tumor necrosis factor-beta genes on human chromosome 6p using lymphoblastoid cell deletion mutants. *Somat. Cell Mol. Genet.* 1989; 15(3):203-213.
2. Ben-Jonathan N, Mershon JL, Steinmetz RW. Extrahipofisario prolactin: distribución, regulación, funciones, y aspectos clínicos. *Endocr. Rev.* 1996; 17(6): 639-669.
3. Gerlo S, Davis JRE, Mager DL, Kooilman R. Prolactin in man; a tale of two promoters. *Bioessays.* 2006; 28 (10) 1051-1055.
4. Banerjee S, Paul P, Talib VJ. Serum prolactin seizure disorders. *Indian pediatr.* 2004; 41 (8); 827-831.