



IVD

CE

PRL-IRMA

KIP1441

Version : 230123

Date of issue : 23/01/2023

Revision date: 23/01/2023

History

Summary of change:

Current Version:
230123
New logo



en

Read entire protocol before use.

PRL-IRMA

I. INTENDED USE

Immunoradiometric assay kit for the in vitro quantitative measurement of human prolactin (PRL) in serum and plasma.

II. GENERAL INFORMATION

A. Proprietary name : DIAsource PRL-IRMA Kit

B. Catalog number : KIP1441: 96 tests

C. Manufactured by : DIAsource ImmunoAssays S.A.
Rue du Bosquet, 2, B-1348 Louvain-la-Neuve, Belgium.

For technical assistance or ordering information contact :
Tel : +32 (0)10 84.99.11 Fax : +32 (0)10 84.99.91

III. CLINICAL BACKGROUND

A. Biological activities

Prolactin (PRL) is a polypeptide hormone (molecular weight 20,000 Da) secreted by the pituitary gland, which plays a key role in the development of the mammary gland, the production and secretion of milk and the control of male and female gonadal functions. Prolactin secretion is under hypothalamic control exerted directly by dopamine, several prolactin releasing factors (PRF) and perhaps VIP (vasoactive intestinal polypeptide) or a closely related peptide. Thyrotropin releasing hormone (TRH) also acts directly at the pituitary level to stimulate prolactin release but its physiological role in the control of prolactin secretion has not been established yet. Several neuroendocrine factors, involving serotonergic or noradrenergic pathways are also involved in the control of prolactin secretion. The plasma concentration of prolactin increases in various physiological situations such as stress, pregnancy and lactation. Physiological levels fluctuate according to a nycthemeral rhythm, a significant rise being observed at night. Drugs with anti-dopamine activity (psychotropic agents) and ovulatory suppressants, increase prolactin secretion.

B. Clinical application

- *Prolactinoma* : Circulating prolactin levels are elevated in patients with a prolactin secreting pituitary adenoma. Amenorrhea and impotence are characteristic clinical symptoms in such cases.
- *Other pituitary diseases* : Increased prolactin levels are also observed in 5% to 20% of patients with acromegaly and when pituitary control by the hypothalamus is suppressed (pituitary stalk section). Decreased PRL levels may be observed in cases of complete destruction of the pituitary as in Sheehan's syndrome.
- *Galactorrhea and amenorrhea* : The measurement of the prolactin levels in serum is a useful test in the differential diagnosis of galactorrhea and amenorrhea.

IV. PRINCIPLES OF THE METHOD

The DiaSource PRL-Irma is an immunoradiometric assay based on coated-tube separation. Mabs1, the capture antibodies, are attached to the lower and inner surface of the plastic tube. Calibrators or samples added to the tubes will at first show low affinity for Mabs1. Addition of Mab2, the signal antibody labelled with ^{125}I , will complete the system and trigger the immunological reaction. After washing, the remaining radioactivity bound to the tube reflects the antigen concentration. The use of several distinct Mabs avoids hyperspecificity.

V. REAGENTS PROVIDED

Reagents	Quantity 96 tests	Colour Code	Reconstitution
Tubes coated with anti PRL (monoclonal antibodies)	2 x 48	orange	Ready for use
Ab ^{125}I Anti-PRL- ^{125}I (monoclonal antibodies) in TRIS Buffer with bovine serum albumin, sodium azide (0.5 %) and inert red dye	1 vial 22 ml 340 kBq	red	Ready for use
CAL 0 Zero Calibrator in bovine serum with thymol	1 vial lyophil.	yellow	Add 2 ml distilled water
CAL N Calibrators 1-5 in bovine serum with thymol (see exact values on vial labels)	5 vials lyophil.	yellow	Add 0.5 ml distilled water
WASH SOLN CONC Wash solution (TRIS-HCl)	1 vial 10 ml	brown	Dilute 70 x in distilled water (use a magnetic stirrer).
CONTROL N Controls 1 and 2 in human plasma with thymol	2 vials lyophil.	silver	Add 0.5 ml distilled water

- Note:
1. Use the zero calibrator for sera dilutions.
 2. 1 ng of the calibrator preparation is equivalent to 29 μIU NIBSC 3rd IS 84/500.
 3. Conversion factor : $\text{ng/ml} \times 29 = \mu\text{UI/ml}$

VI. SUPPLIES NOT PROVIDED

The following material is required but not provided in the kit:

1. Distilled water
2. Pipettes for delivery of: 25 μl , 200 μl , 500 μl and 2 ml. (the use of accurate pipettes with disposable plastic tips is recommended)
3. Vortex mixer
4. Magnetic stirrer
5. 5 ml automatic syringe (Cornwall type) for washing
6. Aspiration system (optional).
7. Any gamma counter capable of measuring ^{125}I may be used (minimal yield 70%).

VII. REAGENT PREPARATION

- Calibrators:** Reconstitute the zero calibrator with 2 ml distilled water and the other calibrators with 0.5 ml distilled water.
- Controls:** Reconstitute the controls with 0.5 ml distilled water.
- Working Wash solution:** Prepare an adequate volume of Working Wash solution by adding 69 volumes of distilled water to 1 volume of Wash Solution (70x). Use a magnetic stirrer to homogenize. Discard unused Working Wash solution at the end of the day.

VIII. STORAGE AND EXPIRATION DATING OF REAGENTS

- Before opening or reconstitution, all kit components are stable until the expiry date, indicated on the label, if kept at 2 to 8°C.
- After reconstitution, calibrators and controls are stable for 7 days at 2-8°C. For longer storage periods, aliquots should be made and kept at -20°C for 3 months. Avoid subsequent freeze-thaw cycles.
- Freshly prepared Working Wash solution should be used on the same day.
- After its first use, tracer is stable until expiry date, if kept in the original well-closed vial at 2 to 8°C.
- Alterations in physical appearance of kit reagents may indicate instability or deterioration.

IX. SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

- Serum and plasma must be kept at 2 – 8°C.
- If the test is not run within 24 hours, storage at -20°C is recommended.
- Avoid subsequent freeze-thaw cycles.
- Do not use lipemic samples.
- Serum or plasma (EDTA and heparin) provides similar results.

$$Y(\text{hep. plasma}) = 0.90 \times (\text{serum}) + 0.06 \quad r = 0.98 \quad n = 19$$

$$Y(\text{EDTA plasma}) = 0.91 \times (\text{serum}) + 0.46 \quad r = 0.99 \quad n = 19$$

X. PROCEDURE

A. Handling notes

Do not use the kit or components beyond expiry date. Do not mix materials from different kit lots. Bring all the reagents to room temperature (18-25°C) prior to use. Thoroughly mix all reagents and samples by gentle agitation or swirling. In order to avoid cross-contamination, use a clean disposable pipette tip for the addition of each reagent and sample. High precision pipettes or automated pipetting equipment will improve the precision. Respect the incubation times. Prepare a calibration curve for each run, do not use data from previous runs.

B. Procedure

1. Label coated tubes in duplicate for each calibrator, control and sample. For determination of total counts, label 2 normal tubes.
2. Briefly vortex calibrators, samples and controls and dispense 25 μl of each into the respective tubes.
3. Dispense 200 μl of anti-PRL- ^{125}I tracer into each tube, including the uncoated tubes for total counts.
4. Shake the rack containing the tubes gently by hand to liberate any trapped air bubbles.
5. Incubate for 2 hours at room temperature (18-25°C).
6. Aspirate (or decant) the content of each tube (except total counts). Be sure that the plastic tip of the aspirator reaches the bottom of the coated tube in order to remove all the liquid.
7. Wash the tubes with 2 ml Wash Solution (except total counts). Avoid foaming during the addition of the Working Wash Solution.
8. Aspirate (or decant) the content of each tube (except total counts).
9. Let the tubes standing upright for two minutes and aspirate the remaining drop of liquid.
10. Count the tubes in a gamma counter for 60 seconds.

XI. CALCULATION OF RESULTS

1. Calculate the mean of duplicate determinations.
2. Plot the c.p.m. (ordinate) for each calibrator against the corresponding concentration of PRL (abscissa) and draw a calibration curve through the calibrator points, reject the obvious outliers.
3. Read the concentration for each control and sample by interpolation on the calibration curve.
4. Computer assisted data reduction will simplify these calculations. If automatic result processing is used, a 4-parameter logistic function curve fitting is recommended.

XII. TYPICAL DATA

The following data are for illustration only and should never be used instead of the real time calibration curve.

PRL-IRMA		cpm	B/T (%)
Total count		144108	100
Calibrator	0.0 ng/ml 2.88 ng/ml 8.41 ng/ml 25.50 ng/ml 87.20 ng/ml 205.00 ng/ml	254 1544 3913 9828 24551 41925	0.18 0.90 2.54 6.64 16.86 28.92

XIII. PERFORMANCE AND LIMITATIONS

A. Detection Limit

The LoB (Limit of Blank) was calculated by measuring the blank several times and was calculated as the mean + 2 Standard Deviations of the distribution of the test values ; the LoB was calculated to be 0.18 ng/ml. The LoD (Limit of Detection) was calculated as the LoB + 1.645 Standard Deviation of a low concentration sample tested in 9 different runs. The LoD was calculated to be 0.76 ng/ml.

The LoQ (Limit of Quantification) was calculated by testing 5 low values samples, 9 times. The LoQ was calculated to be 1.26 ng/ml.

B. Specificity

Cross-reactive hormones were added to a low and to a high PRL value calibrator. The apparent PRL response was measured.

Added Hormone	Sample 1 ng/ml	Sample 2 ng/ml
-	16.8	57.1
LH 750 mIU/ml	18.0	55.0
hCG 500000 mIU/ml	18.8	56.1
-	16.9	51.9
FSH 500 mIU/ml	17.4	58.8
-	17.0	54.4
hPL 100000 ng/ml	18.0	56.4
-	18.0	56.5
hGH 125 ng/ml	18.3	57.1
-	16.9	52.2
TSH 740 mIU/ml	17.8	54.8

The DIAsource PRL-IRMA measures total PRL, which means both the active prolactin monomer and the biologically inactive macroprolactin (see references 10 and 11).

For patients showing an elevated PRL level with this kit, additional information should be obtained in order to establish a correct diagnosis.

The potentially interfering effects of hemoglobin at 500 mg/dl and of bilirubin at 100 mg/dl have been evaluated. The results of this test do not demonstrate any significant interference as shown in the table below.

However an interference with triglycerides has been observed from a concentration of 62.5 mg /dl as shown in the table below.

So lipemic samples should be avoided.

Interfering substance	Plasma 1 (ng/ml)	Plasma 2 (ng/ml)	Serum 1 (ng/ml)
-	17.8	56.6	13.2
Hemoglobin	18.2	57.1	13.4
-	18.7	54.8	14.0
Bilirubin	18.0	57.5	13.8
-	19.3	64.1	13.1
Triglycerides	16.7	47.6	11.3

C. Precision

INTRA ASSAY

Sample	N	\times S.D. (ng/ml)	CV (%)	Sample	N	\times S.D. (ng/ml)	CV (%)
A	10	19.4 ± 0.5	2.6	A	15	20.3 ± 0.7	3.5
B	10	63.1 ± 1.5	2.4	B	15	63.6 ± 2.4	3.7

D. Accuracy

RECOVERY TEST

Sample	Added PRL (ng/ml)	Recovered PRL (ng/ml)	Recovery (%)
1	63 78.1 104.7 112.7	59.7 80.7 102.4 117.3	94.7 103.3 97.7 104.1
2	63 78.1 104.7 112.7	58.0 75.7 101.3 112.1	92.0 96.9 96.7 99.5

DILUTION TEST

Sample	Dilution	Theoretical Concent. (ng/ml)	Measured Concent. (ng/ml)
1	1/1 1/2 1/4 1/8	- 75.7 37.9 18.9	151.5 81.6 38.5 16.7
2	1/1 1/2 1/4 1/8 1/16	- 91.7 45.8 22.9 11.5	183.4 104.1 47.9 22.4 10.1

Samples were diluted with zero calibrator.

E. Time Delay

As shown below, assay results remain accurate even when a sample is dispensed up to 60 minutes after the calibrator has been added to the coated tubes.

TIME DELAY

	0' (ng/ml)	15' (ng/ml)	30' (ng/ml)	60' (ng/ml)
Sample 1	19.5	20.2	21.3	20.4
Sample 2	67.4	65.2	64.3	63.4

F. Hook effect

A serum sample with a concentration of 16000 ng/ml PRL gives a signal above the highest calibrator concentration.

Measuring range: 1.26 (LoQ) to 16000 ng/ml (hook effect)

XIV. LIMITATIONS

- Specimens from patients who have received preparations of mouse monoclonal antibodies for diagnosis or therapy may contain human anti-mouse antibodies (HAMA). Such specimens may show either falsely elevated or depressed values when tested with assay kits which employ mouse monoclonal antibodies.
- Heterophilic antibodies in human serum can react with reagent immunoglobulins, interfering with in vitro immunoassays. Patients routinely exposed to animals or animal serum products can be prone to this interference and anomalous values may be observed in case of the presence of heterophilic antibodies. Carefully evaluate the results of patients suspected of having these antibodies. If results are not consistent with other clinical observations, additional information should be required before diagnosis.

XV. INTERNAL QUALITY CONTROL

- If the results obtained for Control 1 and/or Control 2 are not within the range specified on the vial label, the results cannot be used unless a satisfactory explanation for the discrepancy has been given.
- If desirable, each laboratory can make its own pools of control samples, which should be kept frozen in aliquots.
- Acceptance criteria for the difference between the duplicate results of the samples should rely on Good Laboratory Practises

XVI. REFERENCE INTERVALS

The values provided below are given only for guidance; each laboratory should establish its own normal range of values.

PRL concentrations were measured in serum samples obtained from different categories of healthy subjects.

Identification	Number of subjects	Mean (ng/ml)	Range (2.5-97.5 percentiles) (ng/ml)
Males	40	8.5	3.0 – 18.8
Women (18-60 years old)	31	9.2	3.0 – 16.5
Women (> 60 years old)	37	7.2	3.8 – 18.1

XVII. PRECAUTIONS AND WARNINGS

Safety

For in vitro diagnostic use only.

This kit contains ^{125}I (half-life: 60 days), emitting ionizing X (28 keV) and γ (35.5 keV) radiations.

This radioactive product can be transferred to and used only by authorized persons; purchase, storage, use and exchange of radioactive products are subject to the legislation of the end user's country. In no case the product must be administered to humans or animals.

All radioactive handling should be executed in a designated area, away from regular passage. A logbook for receipt and storage of radioactive materials must be kept in the lab. Laboratory equipment and glassware, which could be contaminated with radioactive substances, should be segregated to prevent cross contamination of different radioisotopes.

Any radioactive spills must be cleaned immediately in accordance with the radiation safety procedures. The radioactive waste must be disposed of following the local regulations and guidelines of the authorities holding jurisdiction over the laboratory. Adherence to the basic rules of radiation safety provides adequate protection.

The human blood components included in this kit have been tested by European approved and/or FDA approved methods and found negative for HBsAg, anti-HCV, anti-HIV-1 and 2. No known method can offer complete assurance that human blood derivatives will not transmit hepatitis, AIDS or other infections. Therefore, handling of reagents, serum or plasma specimens should be in accordance with local safety procedures.

All animal products and derivatives have been collected from healthy animals. Bovine components originate from countries where BSE has not been reported. Nevertheless, components containing animal substances should be treated as potentially infectious.

Avoid any skin contact with reagents (sodium azide as preservative). Azide in this kit may react with lead and copper in the plumbing and in this way form highly explosive metal azides. During the washing step, flush the drain with a large amount of water to prevent azide build-up.

Do not smoke, drink, eat or apply cosmetics in the working area. Do not pipette by mouth. Use protective clothing and disposable gloves.

XVIII. BIBLIOGRAPHY

1. Archer D.F. (1977). **Current concepts of prolactin physiology in normal and abnormal conditions.** Fertil Steril 28:125.
2. Laufer N., Botero-Ruiz W., De Chemey A.H., et al. (1984). **Gonadotropin and prolactin levels in follicular fluid of human ova successfully fertilized in vitro.** J. Clin. Endocrinol. Metab. 58:430.
3. Leong D.A., Frawley L.S., Neil J.D. (1983). **Neuroendocrine control of prolactin secretion.** An. Rev. of Physiol. 45:109.
4. Seppala M. (1978). **Prolactin and female reproduction.**

An. Clin. Res. 10:164.

5. Taylor T.J., Trouson A, Besanko M., Burger H.G., Stockdale J. (1986). **Plasma progesterone and prolactin changes in superovulated women before, during and immediately after laparoscopy for in vitro fertilisation and their relation to pregnancy** Fertil. Steril 45:680.
6. Tyson J.E. (1980) **Changing role of placental lactogen and prolactin in human gestation.** Clin. Obstet.Gynecol 23:737.
7. Kamel M.A et al (1994) **Comparison between prolactin, gonadotropins and steroid hormones in serum and follicular fluid after stimulation with gonadotrophin-releasing hormone agonist and human menopausal gonadotrophin for an in-vitro fertilization program.** Hum. Reprod. 9(10):1803-6.
8. Patel D.D. et al (1994). **Plasma prolactin in patients with colorectal cancer. Value in follow-up and as a prognosticator** Cancer 73(3):570-74.
9. Hattori et al (1994). **Effects of anti-prolactin autoantibodies on serum prolactin measurements.** Eur. J. Endocrinol. 130(5):434-7.
10. Suh H.K. et al (1974). **Size heterogeneity of human Prolactin in plasma and pituitary extracts.** J. Clin. Endocrinol Metab 39 : 928-935.
11. Bonhoff A. et al (1995) **Identification of macroprolactin in a patient with asymptomatic hyperprolactinemia as a stable PRL-IgG complex.** Exp. Clin. Endocrinol. 103 : 252-5

XIX. SUMMARY OF THE PROTOCOL

	TOTAL COUNTS ml	CALIBRATORS ml	SAMPLE(S)/ CONTROLS ml
Calibrators (0-5) Samples, Controls Tracer	- 0.200	0.025 0.200	- 0.025 0.200
Incubation			2 hours at room temperature (18-25°C)
Separation Washing solution Separation	- - -	Aspirate (or decant) 2 ml Aspirate (or decant)	
Counting			Count tubes for 60 seconds

Other translations of this Instruction for Use can be downloaded from our website: <https://www.diasource-diagnostics.com/>

Lire entièrement le protocole avant utilisation.

PRL-IRMA

I. BUT DU DOSAGE

Trousse de dosage radio-immunométrique pour la mesure quantitative *in vitro* de la prolactine humaine (PRL) dans le sérum et le plasma humain.

II. INFORMATIONS GENERALES

- A. Nom du produit : DIAsource PRL-IRMA kit
- B. Numéro de catalogue : KIP1441 : 96 tests
- C. Fabriqué par : DIAsource ImmunoAssays S.A.
Rue du Bosquet, 2, B-1348 Louvain-la-Neuve, Belgium.

Pour une assistance technique ou une information sur une commande :

Tel : +32 (0)10 84.99.11 Fax : +32 (0)10 84.99.91

III. CONTEXTE CLINIQUE

A. Activités biologiques

La prolactine (PRL) est une hormone polypeptidique avec un poids moléculaire de 20 000 Da, sécrétée par la glande pituitaire, qui joue un rôle dans le développement de la glande mammaire, la production et la sécrétion de lait et le contrôle des fonctions gonadiques masculines et féminines. La sécrétion de prolactine se fait sous contrôle hypothalamique effectué directement par la dopamine, plusieurs PRF (« prolactin releasing factors ») et peut-être par le VIP (« polypeptide intestinal vasoactif ») ou un peptide similaire. La TRH (Hormone de libération de la thyrotropine) joue également directement au niveau pituitaire afin de stimuler la libération de prolactine, mais son rôle physiologique dans le contrôle de la sécrétion de prolactine n'est pas encore certain. Plusieurs facteurs neuroendocriniens, comprenant des voies sérotoninergiques ou noradrénergiques, sont également importants pour le contrôle de la sécrétion de prolactine. La concentration de prolactine en plasma augmente dans diverses situations physiologiques comme le stress, la grossesse et la lactation. Les taux physiologiques fluctuent selon un rythme nyctéméral, et une augmentation considérable peut être observée pendant la nuit. Des médicaments avec une activité anti-dopamine (agents psychotropiques) sont des inhibiteurs ovulatoires et font augmenter la sécrétion de prolactine.

B. Application clinique

- *Prolactinome* : les taux de prolactine circulant sont élevés chez des patients avec un adénome pituitaire sécrétant de la prolactine. Dans ces cas, l'aménorrhée et l'impuissance sont des symptômes cliniques caractéristiques.
- *D'autres maladies pituitaires* : des taux de prolactine élevés sont également observés dans 5% à 20% des patients avec acromégalie, et quand le contrôle pituitaire par l'hypothalamus est supprimé (section de la tige pituitaire). Des taux de PRL diminués peuvent être observés dans le syndrome de Sheehan si l'axe pituitaire est complètement détruit.
- *Galactorrhée et amenorrhée* : la mesure des taux de prolactine en sérum est un test utile pour le diagnostic différentiel de galactorrhée et d'amenorrhée.

IV. PRINCIPE DU DOSAGE

La trousse DIAsource PRL-Irma est une trousse de dosage radioimmunométrique basée sur la séparation en tubes recouverts d'anticorps. Mabs1, les anticorps de capture, sont attachés sur la surface interne, au fond des tubes en plastique. Les calibrateurs ou les échantillons ajoutés dans les tubes présenteront dans un premier temps une faible affinité pour Mabs1. L'addition de Mab2, l'anticorps de détection marqué avec l'¹²⁵I, complètera le système et déclenchera la réaction immunologique. Suite au lavage, la radioactivité restante liée aux tubes reflètera la concentration de l'antigène. L'utilisation de plusieurs Mabs différents évite l' hyperspécificité, commune aux IRMA deux-sites.

V. REACTIFS FOURNIS

Reactifs	96 tests Kit	Code Couleur	Reconstitution
Tubes recouverts avec l'anti PRL (anticorps monoclonal)	2 x 48	orange	Prêt à l'emploi
Ab ¹²⁵I TRACEUR: anti-PRL marquée à l' ¹²⁵ Iodine (anticorps monoclonaux) dans un tampon TRIS avec de l'albumine bovine, de l'azide de sodium (0,5%) et un colorant rouge inactif	1 flacon 22 ml 340 kBq	Rouge	Prêt à l'emploi
CAL 0 Calibrateur zéro dans du sérum bovin et du thymol	1 flacon lyophilisé	Jaune	Ajouter 2 ml d'eau distillée
CAL N Calibrateur N = 1 à 5 (cfr. Valeurs exactes sur chaque flacon) dans du sérum bovin et du thymol	5 flacons lyophilisés	Jaune	Ajouter 0,5 ml d'eau distillée
WASH SOLN CONC Solution de Lavage (Tris-HCl)	1 flacon 10 ml	Brun	Diluer 70 x avec de l'eau distillée (utiliser un agitateur magnétique).
CONTROL N Contrôles - N = 1 ou 2 dans du plasma humain et du thymol	2 flacons lyophilisés	Gris	Ajouter 0,5 ml d'eau distillée

Note: 1. Utiliser le Calibrateur zéro pour la dilution des échantillons.
 2. 1 ng de la préparation du calibrateur est équivalent à 29 µUI NIBSC 3rd IS 84/500.
 3. Facteur de conversion : ng/ml x 29= µUI / ml

VI. MATERIEL NON FOURNI

Le matériel mentionné ci-dessous est requis mais non fourni avec la trousse:

- Eau distillée
- Pipettes pour distribuer: 25 µl, 200 µl, 500 µl et 2 ml (l'utilisation de pipettes précises et de pointes jetables en plastique est recommandée)
- Agitateur vortex
- Agitateur magnétique
- Seringue automatique de 5 ml (type Cornwall) pour les lavages
- Système d'aspiration (optionnel)
- Tout compteur gamma capable de mesurer l'¹²⁵I (rendement minimum 70%).

VII. PREPARATION DES REACTIFS

- Calibrateurs** : Reconstituer le calibrateur zéro avec 2 ml d'eau distillée et les autres calibrateurs avec 0,5 ml d'eau distillée.
- Contrôles** : Reconstituer les contrôles avec 0,5 ml d'eau distillée.
- Solution de Lavage** : Préparer un volume adéquat de Solution de Lavage en ajoutant 69 volumes d'eau distillée à 1 volume de Solution de Lavage (70x). Utiliser un agitateur magnétique pour homogénéiser. Eliminer la Solution de Lavage non utilisée à la fin de la journée.

VIII. STOCKAGE ET DATE D'EXPIRATION DES REACTIFS

- Avant l'ouverture ou la reconstitution, tous les composants de la trousse sont stables jusqu'à la date d'expiration, indiquée sur l'étiquette, si la trousse est conservée entre 2 et 8°C.
- Après reconstitution, les calibrateurs et les contrôles sont stables pendant 7 jours entre 2 et 8°C. Pour de plus longues périodes de stockage, des aliquots devront être réalisés et ceux-ci seront gardés à -20°C pendant 3 mois au maximum. Eviter des cycles de congélation et décongélation successifs.
- La Solution de Lavage préparée doit être utilisée le jour même.
- Après la première utilisation, le traceur est stable jusqu'à la date d'expiration, si celui-ci est conservé entre 2 et 8°C dans le flacon d'origine correctement fermé.
- Des altérations dans l'apparence physique des réactifs de la trousse peuvent indiquer une instabilité ou une détérioration.

IX. PREPARATION ET STABILITE DE L'ECHANTILLON

- Les échantillons de sérum ou de plasma doivent être gardés entre 2 et 8°C.
- Si le test n'est pas réalisé dans les 24 heures, un stockage à -20°C est recommandé.
- Eviter des cycles de congélation et décongélation successifs.
- Ne pas utiliser d'échantillons lipémiques.
- Le sérum ou le plasma (EDTA ou héparinés) donne des résultats similaires.

$$Y(\text{plasma hép.}) = 0,90 \times (\text{sérum}) + 0,06 \quad r = 0,98 \quad n = 19$$

$$Y(\text{plasma EDTA}) = 0,91 \times (\text{sérum}) + 0,46 \quad r = 0,99 \quad n = 19$$

X. MODE OPERATOIRE

A. Notes de manipulation

Ne pas utiliser la trousse ou ses composants après avoir dépassé la date d'expiration. Ne pas mélanger du matériel provenant de trousse de lots différents. Mettre tous les réactifs à température ambiante (18-25°C) avant utilisation.
 Mélanger tous les réactifs et les échantillons sous agitation douce. Pour éviter toute contamination croisée, utiliser une nouvelle pointe de pipette pour l'addition de chaque réactif et échantillon.
 Des pipettes de haute précision ou un équipement de pipetage automatique permettent d'augmenter la précision. Respecter les temps d'incubation.
 Préparer une courbe de calibration pour chaque nouvelle série d'expériences, ne pas utiliser les données d'expériences précédentes.

B. Mode opératoire

- Identifier les tubes recouverts fournis dans la trousse, en double pour chaque calibrateur, échantillon, contrôle. Pour la détermination de l'activité totale, identifier 2 tubes non recouverts d'anticorps.
- Agiter au vortex brièvement les calibrateurs, les contrôles et les échantillons. Puis distribuer 25 µl de chacun d'eux dans leurs tubes respectifs.
- Distribuer 200 µl de traceur dans chaque tube.
- Agiter légèrement le portoir de tubes manuellement pour libérer toute bulle d'air emprisonnée.
- Incuber pendant 2 heures à température ambiante (18-25°C).
- Aspirer (ou décanter) le contenu de chaque tube (à l'exception des tubes utilisés pour la détermination de l'activité totale). Assurez-vous que la pointe utilisée pour aspirer le liquide des tubes atteint le fond de chacun d'eux pour éliminer toute trace de liquide.
- Laver les tubes avec 2 ml de Solution de Lavage (à l'exception des tubes utilisés pour la détermination de l'activité totale) et aspirer. Eviter la formation de mousse pendant l'addition de la Solution de Lavage.
- Aspirer (ou décanter) le contenu de chaque tube (à l'exception des tubes utilisés pour la détermination de l'activité totale).
- Laisser les tubes droits pendant 2 minutes et aspirer (ou décanter) le reste de liquide.
- Placer les tubes dans un compteur gamma pendant 60 secondes pour quantifier la radioactivité.

XI. CALCUL DES RESULTATS

- Calculer la moyenne de chaque détermination réalisée en double.
- Tracer les cpm (ordonnées) pour chaque calibrateur contre la concentration correspondante en PRL (abscisses) et dessiner une courbe de calibration à l'aide des points de calibration, écarter les valeurs aberrantes.
- Lire la concentration pour chaque contrôle et échantillon par interpolation sur la courbe de calibration.

4. L'analyse informatique des données simplifiera les calculs. Si un système d'analyse de traitement informatique des données est utilisé, il est recommandé d'utiliser la fonction « 4 paramètres » du lissage de courbes.

XII. DONNEES TYPES

Les données représentées ci-dessous sont fournies pour information et ne peuvent jamais être utilisées à la place d'une courbe de calibration.

PRL-IRMA		cpm	B/T (%)
Activité totale		144108	100
Calibrateur	0,0 ng/ml 2,88 ng/ml 8,41 ng/ml 25,50 ng/ml 87,20 ng/ml 205,00 ng/ml	254 1544 3913 9828 24551 41925	0,18 0,90 2,54 6,64 16,86 28,92

XIII. PERFORMANCE ET LIMITES DU DOSAGE

A. Sensibilité

La LoB (Limit of Blank) a été calculée en mesurant plusieurs fois le blanc et a été calculée comme l'écart type moyen + 2 de la distribution des valeurs d'essai; la LoB a été calculée à 0,18 ng/ml.

La LoD (limite de détection) a été calculée comme l'écart type LoB + 1,645 d'un échantillon de faible concentration testé dans 9 essais différents. La LoD a été calculée à 0,76 ng/ml.

La LoQ (limite de quantification) a été calculée en testant 5 échantillons de faible valeur, 9 fois. La LoQ a été calculée comme étant de 1,26 ng/ml.

B. Spécificité

Des hormones cross-réactives ont été ajoutées à un calibrateur de valeur PRL haute et basse. La réponse PRL apparente a été mesurée.

Hormone ajoutée	Echantillon 1 ng/ml	Echantillon 2 ng/ml
-	16,8	57,1
LH 750 mIU/ml	18,0	55,0
hCG 500000 mIU/ml	18,8	56,1
-	16,9	51,9
FSH 500 mIU/ml	17,4	58,8
-	17,0	54,4
hPL 100000 ng/ml	18,0	56,4
-	18,0	56,5
hGH 125 ng/ml	18,3	57,1
-	16,9	52,2
TSH 740 mIU/ml	17,8	54,8

La trousse DIAsource PRL-IRMA mesure la PRL totale, c'est-à-dire la prolactine monomère active et la macroprolactine biologiquement inactive (cf références bibliographiques 10 et 11)

Pour les patients ayant des taux élevés en Prolactine avec ce dosage, il est recommandé de rassembler des informations supplémentaires à leur sujet afin d'établir un diagnostic correct.

Les effets potentiellement interférents de l'hémoglobine à 500 mg/dl et de la bilirubine à 100 mg/dl ont été évalués. Les résultats de ce test ne montrent aucune interférence significative comme indiqué dans le tableau ci-dessous. Cependant, une interférence avec les triglycérides a été observée à partir d'une concentration de 62,5 mg/dl, comme indiqué dans le tableau ci-dessous. Les échantillons lipémiques doivent donc être évités.

Substance interférente	Plasma 1 (ng/ml)	Plasma 2 (ng/ml)	Sérum 1 (ng/ml)
-	17,8	56,6	13,2
Hemoglobine	18,2	57,1	13,4
-	18,7	54,8	14,0
Bilirubine	18,0	57,5	13,8
-	19,3	64,1	13,1
Triglycérides	16,7	47,6	11,3

C. Précision

INTRA-ESSAI				INTER-ESSAI			
Echant	N	$\text{\bar{x}} \pm \text{SD}$ (ng/ml)	CV (%)	Echant	N	$\text{\bar{x}} \pm \text{SD}$ (ng/ml)	CV (%)
A	10	19,4 ± 0,5	2,6	A	15	20,3 ± 0,7	3,5
B	10	63,1 ± 1,5	2,4	B	15	63,6 ± 2,4	3,7

SD : Déviation Standard; CV: Coefficient de variation

D. Exactitude

TEST DE RECUPERATION			
Echantillon	PRL ajoutée (ng/ml)	PRL récupérée (ng/ml)	Récupération (%)
1	63 78,1 104,7 112,7	59,7 80,7 102,4 117,3	94,7 103,3 97,7 104,1
2	63 78,1 104,7 112,7	58,0 75,7 101,3 112,1	92,0 96,9 96,7 99,5

TEST DE DILUTION			
Echantillon	Dilution	Concent. théorique (ng/ml)	Concent. Mesurée (ng/ml)
1	1/1 1/2 1/4 1/8	- 75,7 37,9 18,9	151,5 81,6 38,5 16,7
2	1/1 1/2 1/4 1/8 1/16	- 91,7 45,8 22,9 11,5	183,4 104,1 47,9 22,4 10,1

Les échantillons ont été dilués avec le calibrateur zéro.

E. Délai entre la distribution du dernier calibrateur et celle de l'échantillon

Comme montré ci-dessous, les résultats d'un essai restent précis même quand un échantillon est distribué 60 minutes après que le calibrateur ait été ajouté aux tubes avec l'anticorps.

DELAI				
	0' (ng/ml)	15' (ng/ml)	30' (ng/ml)	60' (ng/ml)
Echantillon 1	19,5	20,2	21,3	20,4
Echantillon 2	67,4	65,2	64,3	63,4

F. Effet crochet

Un échantillon de sérum avec une concentration de 16000 ng/ml PRL donne des cpm supérieurs au dernier point de calibration.

Plage de mesure: 1,26 (LoQ) à 16000 ng / ml (effet crochet)

XIV. LIMITATIONS

- Les échantillons de patients ayant reçu des préparations d'anticorps monoclonaux de souris pour un diagnostic ou comme traitement peuvent contenir des anticorps humains anti-souris (HAMA). De tels échantillons peuvent montrer des valeurs soit faussement élevées soit faussement basses lorsqu'ils sont analysés avec des trouses d'analyses utilisant des anticorps monoclonaux de souris.
- Des anticorps hétérophiles dans le sérum humain peuvent réagir avec le réactif immunoglobulines, interférant ainsi avec les méthodes d'analyse immunologiques *in vitro*.

Les patients couramment en contact avec des animaux ou des produits de sérum animal peuvent être sujets à ces interférences. Des valeurs anormales peuvent être observées en cas de présence d'anticorps hétérophiles. Évaluer soigneusement les résultats des patients suspectés d'avoir ces anticorps.

Si les résultats ne sont pas cohérents avec les autres observations cliniques, des informations supplémentaires doivent être demandées avant de poser le diagnostic.

XV. CONTROLE QUALITE INTERNE

- Si les résultats obtenus pour le(s) contrôle(s) 1 et/ou 2 ne sont pas dans l'intervalle spécifié sur l'étiquette du flacon, les résultats ne peuvent pas être utilisés à moins que l'on ait donné une explication satisfaisante de la non-conformité.
- Chaque laboratoire est libre de faire ses propres stocks d'échantillons contrôles, lesquels doivent être congelés aliquotés.
- Les critères d'acceptation pour les écarts des valeurs *in duplo* des échantillons doivent être basés sur les pratiques de laboratoire courantes.

XVI. VALEURS ATTENDUES

Les valeurs sont données à titre d'information; chaque laboratoire doit établir ses propres écarts de valeurs.

Les concentrations de PRL ont été mesurées dans des échantillons de sérum provenant de différentes catégories de sujets sains.

Identification	Nombre de sujets	Moyenne (ng/ml)	Plage (2,5 à 97,5 percentiles) (ng/ml)
Males	40	8,5	3,0 – 18,8
Femmes (18-60 ans)	31	9,2	3,0 – 16,5
Femmes (> 60 ans)	37	7,2	3,8 – 18,1

XVII. PRECAUTIONS ET AVERTISSEMENTS

Sécurité

Pour utilisation en diagnostic *in vitro* uniquement.

Cette trousse contient de l' I^{125} I (demi-vie: 60 jours), une matière radioactive émettant des rayonnements ionisants X (28 keV) et γ (35,5 keV).

Ce produit radioactif peut uniquement être reçu, acheté, possédé ou utilisé par des personnes autorisées; l'achat, le stockage, l'utilisation et l'échange de produits radioactifs sont soumis à la législation du pays de l'utilisateur final. Ce produit ne peut en aucun cas être administré à l'homme ou aux animaux.

Toutes les manipulations radioactives doivent être exécutées dans un secteur désigné, éloigné de tout passage. Un journal de réception et de stockage des matières radioactives doit être tenu à jour dans le laboratoire. L'équipement de laboratoire et la verrerie, qui pourrait être contaminée avec des substances radioactives, doivent être isolés afin d'éviter la contamination croisée de plusieurs isotopes.

Toute contamination ou perte de substance radioactive doit être réglée conformément aux procédures de radio sécurité. Les déchets radioactifs doivent être placés de manière à respecter les réglementations en vigueur. L'adhésion aux règles de base de sécurité concernant les radiations procure une protection adéquate.

Les composants de sang humain inclus dans ce kit ont été évalués par des méthodes approuvées par l'Europe et/ou la FDA et trouvés négatifs pour HBsAg, l'anti-HCV, l'anti-HIV-1 et 2. Aucune méthode connue ne peut offrir l'assurance complète que des dérivés de sang humain ne transmettront pas d'hépatite, le sida ou toute autre infection. Donc, le traitement des réactifs, du sérum ou des échantillons de plasma devront être conformes aux procédures locales de sécurité. Tous les produits animaux et leurs dérivés ont été collectés d'animaux sains. Les composants bovins proviennent de pays où l'ESB n'a pas été détectée. Néanmoins, les composants contenant des substances animales devront être traités comme potentiellement infectieux.

L'azide de sodium est nocif s'il est inhalé, avalé ou en contact avec la peau (l'azide de sodium est utilisé comme agent conservateur). L'azide dans cette trousse pouvant réagir avec le plomb et le cuivre dans les canalisations et donner des composés explosifs, il est nécessaire de nettoyer abondamment à l'eau le matériel utilisé.

Ne pas fumer, ni boire, ni manger ni appliquer de produits cosmétiques dans les laboratoires où des produits radioactifs sont utilisés. Ne pas pipeter avec la bouche. Utiliser des vêtements protecteurs et des gants à usage unique.

XVIII. BIBLIOGRAPHIE

1. Archer D.F. (1977). **Current concepts of prolactin physiology in normal and abnormal conditions.** Fertil Steril 28:125.
2. Laufer N., Botero-Ruiz W., De Chemey A.H., et al. (1984). **Gonadotropin and prolactin levels in follicular fluid of human ova successfully fertilized in vitro.**

J. Clin. Endocrinol. Metab. 58:430.

3. Leong D.A., Frawley L.S., Neil J.D. (1983). **Neuroendocrine control of prolactin secretion.** An. Rev. of Physiol. 45:109.
4. Seppala M. (1978). **Prolactin and female reproduction.** An. Clin. Res. 10:164.
5. Taylor T.J., Trouson A, Besanko M., Burger H.G., Stockdale J. (1986). **Plasma progesterone and prolactin changes in superovulated women before, during and immediately after laparoscopy for in vitro fertilisation and their relation to pregnancy** Fertil. Steril 45:680.
6. Tyson J.E. (1980) **Changing role of placental lactogen and prolactin in human gestation.** Clin. Obstet.Gynecol 23:737.
7. Kamel M.A et al (1994) **Comparison between prolactin, gonadotropins and steroid hormones in serum and follicular fluid after stimulation with gonadotrophin-releasing hormone agonist and human menopausal gonadotrophin for an in-vitro fertilization program.** Hum. Reprod. 9(10):1803-6.
8. Patel D.D. et al (1994). **Plasma prolactin in patients with colorectal cancer. Value in follow-up and as a prognosticator** Cancer 73(3):570-74.
9. Hattori et al (1994). **Effects of anti-prolactin autoantibodies on serum prolactin measurements.** Eur. J. Endocrinol. 130(5):434-7.
10. Suh H.K. et al (1974). **Size heterogeneity of human Prolactin in plasma and pituitary extracts.** J. Clin. Endocrinol Metab 39 : 928-935.
11. Bonhoff A. et al (1995) **Identification of macroprolactin in a patient with asymptomatic hyperprolactinemia as a stable PRL-IgG complex.** Exp. Clin. Endocrinol. 103 : 252-5

XIX. RESUME DU PROTOCOLE

	ACTIVITE TOTALE (ml)	CALIBRAT-EURS (ml)	ECHANTILLON(S)/CONTROLES (ml)
Calibrateurs (0-5) Echantillons, Contrôles Traceur	- - 0,2	0,025 - 0,2	- 0,025 0,2
Incubation			2 heures à température ambiante (18-25°C)
Séparation Solution de Lavage Séparation	- -	Aspiration 2 ml Aspiration	
Comptage			Temps de comptage des tubes: 60 secondes

Lees het hele protocol vóór gebruik.

PRL-IRMA

I. BEOOGD GEBRUIK

Immunoradiometrische testkit voor de in vitro kwantitatieve bepaling van humaan prolactine (PRL) in serum en plasma.

II. ALGEMENE INFORMATIE

A. Gedeponeerd handelsmerk: DIAsource PRL-IRMA kit

B. Catalogusnummer: KIP1441: 96 testen

C. Geproduceerd door: DIAsource ImmunoAssays S.A.
Rue du Bosquet, 2, B-1348 Louvain-la-Neuve, België.

Voor technische assistentie of voor bestelinformatie kunt u contact opnemen met:

Tel.: +32 (0)10 84 99 11 - Fax: +32 (0)10 84 99 91

III. KLINISCHE ACHTERGROND

A. Biologische activiteiten

Prolactine (PRL) is een polypeptide hormoon (moleculair gewicht 20,000 Da) afgescheiden door de hypofyse, dat een sleutelrol speelt in de ontwikkeling van de borstklier, de productie en afscheiding van melk en de controle van zowel mannelijke als vrouwelijke gonadale functies. Prolactine staat onder hypothalamische controle, rechtstreeks uitgevoerd door dopamine, verschillende PRF (prolactine releasing factors) en misschien VIP (vasoactief intestinaal polypeptide) of een nauw verwant peptide. TRH (Thyrotropin releasing hormone) werkt eveneens rechtstreeks op het niveau van de hypofyse om de vrijgave van prolactine te stimuleren maar zijn fysiologische rol in de controle van prolactinesecretie is nog niet zeker. Verschillende neuro-endocriene factoren, waaronder serotonnergische of noradenergische pathways zijn ook betrokken bij de controle van prolactinesecretie. De concentratie van prolactine in plasma verhoogt in verschillende fysiologische situaties zoals stress, zwangerschap en lactatie. De fysiologische niveaus fluctueren volgens een biologisch ritme van 24 uur, en een aanzienlijke verhoging is merkbaar tijdens de nacht. Medicamenten met een anti-dopamine activiteit (psychotropische agentia) en ovulatieremmers verhogen de secretie van prolactine.

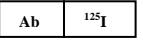
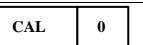
B. Klinische toepassing

- *Prolactinoma* : de niveaus van circulerend prolactine zijn hoog bij patiënten met een prolactine secreterend adenoom. Bij zulke gevallen zijn impotentie en amenorroe kenmerkende klinische symptomen.
- *andere hypofyse-gerelateerde ziekten*: verhoogde prolactineniveaus worden ook vastgesteld bij 5% tot 20% van de patiënten met acromegalie en wanneer de hypofysecontrole door de hypothalamus onderdrukt is (sectie van de hypofysesteel). Verlaagde PRL-niveaus kunnen ook voorkomen in geval van volledige vernietiging van de hypofyse-as bij het syndroom van Sheehan.
- *Galactorrhoe and amenorrhoe* : de bepaling van prolactineniveaus in serum is een nuttige test voor de differentiale diagnose van galactorrhoe and amenorrhoe.

IV. BESCHRIJVING VAN DE METHODE

PRL-Irma van DIAsource is een immunoradiometrische bepaling die gebaseerd is op een scheiding aan de hand van een gecoate buis. Mabs1, de invangantilichamen, zijn onderaan aan het binnenoppervlak van de plastic buis gehecht. Kalibrators of monsters die toegevoegd worden aan de buizen zullen aanvankelijk een lage affiniteit vertonen voor Mabs1. Toevoeging van Mab2, het signaalgenererend antilichaam dat gelabeld werd met ^{125}I , zal het systeem vervolledigen en de immunologische reactie teweegbrengen. Na de wasfase geeft de overblijvende radioactiviteit, gebonden aan de buis, de antigenconcentratie weer. Door het gebruik van meerdere verschillende Mabs wordt hyperspecificiteit vermeden, die gebruikelijk is voor IRMA met 2 Mabs.

V. GELEVERDE REAGENTIA

Reagentia	Kit met 96 testen	Kleur- code	Reconstitutie
 buizen gecoat met anti-PRL (monoklonale antilichamen)	2 x 48	oranje	Klaar voor gebruik
 TRACER: Anti-PRL (monoklonale antilichamen) gelabeld met ^{125}I in TRIS buffer met boven serumalbumine, azide (0,5%) en een inerte rode kleurstof	1 flacon 22 ml 340 kBq	rood	Klaar voor gebruik
 Nulkalibrator in boven serum en thymol	1 flacon gevries-droogd	geel	2 ml gedestilleerd water toevoegen
 Kalibrator - N = 1 tot 5 (raadpleeg de flaconetiketten voor de exacte waarden) in boven serum en thymol	5 flacons, gevries-droogd	geel	0,5 ml gedestilleerd water toevoegen
 Wasoplossing (Tris-HCl)	1 flacon 10 ml	bruin	70 x met gedestilleerd water verdunnen (gebruik een magnetische roerder).
 Controles - N = 1 of 2 in humaan plasma en thymol	2 flacons, gevries-droogd	zilver	0,5 ml gedestilleerd water toevoegen

Opmerking:

1. Gebruik de Nulkalibrator voor monsterverdunningen.
2. 1 ng van de kalibratorbereiding is gelijk aan 29 μIE NIBSC 3rd IS 84/500.
3. Omrekeningsfactor: $\text{ng/ml} \times 29 = \mu\text{IE/ml}$.

VI. NIET MEEGELEVERDE MATERIALEN

De volgende materialen zijn noodzakelijk maar worden niet meegeleverd met de kit:

1. Gedestilleerd water.
2. Pipetten voor een volume van 25 μl , 200 μl , 500 μl en 2 ml (het gebruik van nauwkeurige pipetten met plastic wegwerptips wordt aanbevolen).
3. Automatische spuit van 5 ml (type Cornwall) voor de wasfase.
4. Afzuigssysteem (facultatief).
5. Vortexmenger.
6. Magnetische roerder.
7. Een gammateller die geschikt is voor de bepaling van ^{125}I (rendement van ten minste 70%).

VII. BEREIDING VAN HET REAGENS

- A. **Kalibrators:** Reconstitueer de nulkalibrator met 2 ml gedestilleerd water en de andere kalibrators met 0,5 ml gedestilleerd water.
- B. **Controles:** Reconstitueer de controles met 0,5 ml gedestilleerd water.
- C. **Werk-wasoplossing:** Bereid een voldoende hoeveelheid werk-wasoplossing door 69 eenheden gedestilleerd water toe te voegen aan 1 eenheid wasoplossing (70 x).

Gebruik een magnetische roerder voor de homogenisering. Op het eind van de dag moet de ongebruikte werk-wasoplossing afgevoerd worden.

VIII. OPSLAG EN VERVALDATUM VAN REAGENTIA

- Vóór opening of reconstitutie zijn alle kitcomponenten houdbaar tot de vervaldatum, zoals vermeld op het etiket, indien zij bewaard werden bij 2 tot 8°C.
- Na reconstitutie zijn de kalibrators en controles gedurende 7 dagen houdbaar bij 2 tot 8°C. Voor een langere bewaartijd moeten aliquots gemaakt worden, die bij -20°C bewaard moeten worden voor maximaal 3 maanden. Vermijd opeenvolgende cycli van bevriezen en onttdooien.
- Een vers bereide werk-wasoplossing moet op dezelfde dag nog gebruikt worden.
- Na het eerste gebruik is de tracer houdbaar tot de vervaldatum, indien bewaard bij 2 tot 8°C in de oorspronkelijke, goed afgesloten flacon.
- **Wijzigingen in het fysieke aspect van kitreagentia kunnen wijzen op instabiliteit of op een kwaliteitsvermindering.**

IX. MONSTERAFNAME EN MONSTERBEREIDING

- Serum en plasma moeten bij 2 tot 8°C bewaard worden.
- Indien de bepaling niet binnen 24 uur uitgevoerd wordt, dan wordt aanbevolen om ze bij -20°C te bewaren.
- Vermijd opeenvolgende cycli van bevriezen en onttdooien
- Gebruik geen lipemische monsters.
- Serum en plasma (EDTA en heparine) leveren vergelijkbare resultaten op.

$$Y (\text{Hep. plasma}) = 0,90x (\text{serum}) + 0,06 \quad r = 0,98 \quad n = 19$$

$$Y (\text{EDTA plasma}) = 0,91x (\text{serum}) + 0,46 \quad r = 0,99 \quad n = 19$$

X. PROCEDURE

A. Opmerkingen bij de procedure

Gebruik de kit of de componenten niet langer dan de aangegeven vervaldatum. Materialen van kits van verschillende loten mogen niet gemengd worden. Laat alle reagentia op kamertemperatuur (18-25°C) komen vóór gebruik.

Meng alle reagentia en monsters goed door ze voorzichtig te bewegen of door er voorzichtig mee te draaien. Om kruisbesmetting te vermijden, moet een propere wegwerpbare pipettip gebruikt worden voor toevoeging van elk reagens en monster.

Pipetten met een grote precisie of geautomatiseerde pipetteerapparatuur zullen de precisie verhogen. Respecteer de incubatietijden.

Bereid een kalibratiecurve voor elke run; men mag geen gegevens gebruiken van voorafgaande runs.

B. Procedure

1. Etiketteer de gecoate buisjes in duplo voor elke kalibrator, voor elk monster, voor elke controle. Etiketteer 2 normale buizen voor de bepaling van de totaaltellingen.
2. Vortex de kalibrators, controles en monsters gedurende korte tijd en pipetteer 25 μl van elk in de desbetreffende buis.
3. Pipetteer 200 μl van de tracer in elke buis.
4. Schud het rek met de buizen voorzichtig met de hand zodat eventueel ingesloten luchtbellen vrijkomen.
5. Incubeer gedurende 2 uur bij kamertemperatuur (18-25°C).
6. Zuig de inhoud van elke buis (met uitzondering van de totaaltellingen) op (of decanteer). Zorg ervoor dat de plastic tip van de aspirator tot aan de bodem van de gecoate buis komt zodat alle vloeistof verwijderd wordt.
7. Was de buizen met 2 ml werk-wasoplossing (met uitzondering van de totaaltellingen). Vermijd schuimvorming tijdens toevoeging van de werk-wasoplossing.
8. Zuig de inhoud van elke buis (met uitzondering van de totaaltellingen) op (of decanteer).
9. Laat de buizen gedurende twee minuten rechtop staan en zuig daarna de overblijvende vloeistof op.
10. Tel de buizen in een gammateller gedurende 60 seconden.

XI. BEREKENING VAN DE RESULTATEN

1. Bereken het gemiddelde voor de bepalingen in duplo.
2. Zet de cpm (ordinaat) uit voor elke kalibrator tegen de overeenkomstige PRL-concentratie (abscis) en teken een kalibratiecurve door de kalibratiepunten, waarbij de duidelijke uitschieters verworpen worden.
3. Lees door interpolatie de concentratie voor elke controle en voor elk monster op de kalibratiecurve.
4. Door computergestuurde gegevensreductie worden deze berekeningen vereenvoudigd.

Indien de resultaten automatisch verwerkt worden, wordt de 4 parameter logistische functie aanbevolen voor de gepaste curve.

XII. KENMERKENDE GEGEVENS

De volgende gegevens dienen enkel ter illustratie en mogen in geen geval gebruikt worden ter vervanging van de real time kalibratiecurve.

PRL-IRMA		cpm	B/T (%)
Totaal telling		144108	100
Kalibrator	0,0 ng/ml 2,88 ng/ml 8,41 ng/ml 25,50 ng/ml 87,20 ng/ml 205,00 ng/ml	254 1544 3913 9828 24551 41925	0,18 0,90 2,54 6,64 16,86 28,92

XIII. EIGENSCHAPPEN EN GRENZEN

A. Detectielimiet

De LoB (Limit of Blank) werd berekend door de blanco meerdere keren te meten en werd berekend als de gemiddelde + 2 standaarddeviatie van de verdeling van de testwaarden; de LoB werd berekend op 0,18 ng / ml.

De LoD (Limit of Detection) werd berekend als de LoB + 1,645 standaarddeviatie van een monster met lage concentratie getest in 9 verschillende runs. De LoD werd berekend als 0,76 ng / ml.

De LoQ (Limit of Quantification) werd berekend door 9 monsters met lage waarden 9 keer te testen. De LoQ werd berekend op 1,26 ng / ml.

B. Specificiteit

Kruisreagerende hormones werden toegevoegd aan kalibrators met lage en hoge waarden. De schijnbare respons van PRL werd gemeten.

Hormoon toegevoegd	Monster 1 ng/ml	Monster 2 ng/ml
-	16,8	57,1
LH 750 mIU/ml	18,0	55,0
hCG 500000 mIU/ml	18,8	56,1
-	16,9	51,9
FSH 500 mIU/ml	17,4	58,8
-	17,0	54,4
hPL 100000 ng/ml	18,0	56,4
-	18,0	56,5
hGH 125 ng/ml	18,3	57,1
-	16,9	52,2
TSH 740 mIU/ml	17,8	54,8

PRL-IRMA van DIAsource meet totaal PRL, met andere woorden zowel het actieve prolactine-monomeer als het biologisch niet-actieve macroprolactine (zie referentie 10 en 11).

Voor patiënten die met deze kit een verhoogd PRL-niveau vertonen, moet bijkomende informatie worden verkregen om een correcte diagnose te kunnen stellen.

De potentieel interfererende effecten van hemoglobine bij 500 mg / dl en van bilirubine bij 100 mg / dl zijn geëvalueerd. De resultaten van deze test tonen geen significante interferentie aan, zoals weergegeven in de onderstaande tabel. Er is echter een interferentie met triglyceriden waargenomen bij een concentratie van 62,5 mg / dl, zoals weergegeven in de onderstaande tabel. Lipemische monsters moeten dus worden vermeden.

Storende stof	Plasma 1 (ng/ml)	Plasma 2 (ng/ml)	Serum 1 (ng/ml)
-	17,8	56,6	13,2
Hemoglobin	18,2	57,1	13,4
-	18,7	54,8	14,0
Bilirubin	18,0	57,5	13,8
-	19,3	64,1	13,1
Triglycerides	16,7	47,6	11,3

C. Precisie

BINNEN EEN TEST				TUSSEN TESTEN			
Monster	N	$\bar{X} \pm SD$ (ng/ml)	VC (%)	Monster	N	$\bar{X} \pm SD$ (ng/ml)	VC (%)
A	10	19,4 ± 0,5	2,6	A	15	20,3 ± 0,7	3,5
B	10	63,1 ± 1,5	2,4	B	15	63,6 ± 2,4	3,7

SD: standaarddeviatie; VC: variatiecoëfficiënt

D. Nauwkeurigheid

RECOVERY -TEST

Monster	Toegevoegd PRL (ng/ml)	Recovery van PRL (ng/ml)	Recovery (%)
1	63 78,1 104,7 112,7	59,7 80,7 102,4 117,3	94,7 103,3 97,7 104,1
2	63 78,1 104,7 112,7	58,0 75,7 101,3 112,1	92,0 96,9 96,7 99,5

VERDUNNINGSTEST

Monster	Verdunning	Theoretische concentratie (ng/ml)	Concentratie die bepaald werd (ng/ml)
1	1/1 1/2 1/4 1/8	- 75,7 37,9 18,9	151,5 81,6 38,5 16,7
2	1/1 1/2 1/4 1/8 1/16	- 91,7 45,8 22,9 11,5	183,4 104,1 47,9 22,4 10,1

De stalen zijn verdund met de nulkalibrator.

F. Tijdspanne tussen de laatste kalibrator en distributie van het monster

Zoals hieronder weergegeven wordt, blijven de resultaten van de bepaling nauwkeurig, zelfs wanneer een monster 60 minuten na toevoeging van de kalibrator in de gecodeerde tubes gepipeteeert wordt.

TIJDSPANNE				
	0' (ng/ml)	15' (ng/ml)	30' (ng/ml)	60' (ng/ml)
Monster 1	19,5	20,2	21,3	20,4
Monster 2	67,4	65,2	64,3	63,4

G. "Hook"-effect

Een serummonster met een concentratie van 16000 ng/ml PRL levert hogere tellingen op dan het laatste kalibratiepunt.

Meetbereik: 1,26 (LoQ) tot 16000 ng / ml (Hook effect)

XIV. BEPERKINGEN

- Specimens van patiënten die voor de diagnose of behandeling preparaten hebben gekregen van monoklonale antilichamen van muizen kunnen humane anti-muis-antilichamen (HAMA) bevatten. Dergelijke specimens kunnen ofwel vals-verhoogde of vals-verlaagde waarden vertonen wanneer ze met testkits worden getest waarbij gebruik wordt gemaakt van monoklonale antilichamen van muizen.
- Heterofiele antilichamen in humaan serum kunnen reageren met reagensimmunoglobulinen, wat een effect kan hebben op in vitro immunoassays. Patiënten die regelmatig aan dieren of dierlijke serumproducten worden blootgesteld, kunnen vatbaar zijn voor een dergelijk effect, terwijl afwijkende waarden kunnen worden waargenomen wanneer heterofiele antilichamen aanwezig zijn. Beoordeel de resultaten zorgvuldig van patiënten van wie vermoed wordt dat ze deze antilichamen hebben.

Als de resultaten niet overeenstemmen met andere klinische waarnemingen moet bijkomende informatie worden verkregen voordat de diagnose wordt gesteld.

XV. INTERNE KWALITEITSCONTROLE

- Indien de resultaten, die verkregen werden voor controle 1 en/of controle 2, niet binnen het bereik vallen zoals vermeld op het flaconetiket, dan mogen de resultaten niet gebruikt worden tenzij een bevredigende uitleg gegeven wordt voor de discrepantie.
- Indien gewenst, kan elk laboratorium zijn eigen pools voor controlemonsters maken, die dan in aliquots bewaard moeten worden in de diepvriezer.
- Aanvaardingscriteria voor het verschil tussen de resultaten in duplo van monsters moeten steunen op gangbare laboratoriumpraktijken.

XVI. REFERENTIE-INTERVALS

Deze waarden worden slechts als leidraad gegeven; elk laboratorium moet zijn eigen normaal bereik van waarden uitmaken.

De PRL-concentraties werden gemeten in serummonsters die bekomen werden bij verschillende categorieën gezonde subjecten.

Identificatie	aantal subjecten	Gemiddelde (ng/ml)	Bereik (2,5-97,5 percentielen) (ng/ml)
Mannetjes	40	8,5	3,0 – 18,8
Vrouwen (18-60 jaar)	31	9,2	3,0 – 16,5
Vrouwen (> 60 jaar)	37	7,2	3,8 – 18,1

XVII. VOORZORGSMATREGELEN EN WAARSCHUWINGEN

Veiligheid

Uitsluitend voor in vitro diagnostisch gebruik.

Deze kit bevat ^{125}I (halfwaardetijd: 60 dagen), dat ioniserende X- (28 keV) en γ -stralen (35,5 keV) uitzendt.

Dit radioactieve product mag enkel overhandigd worden aan en gebruikt worden door bevoegd personeel; ontvangst, opslag, gebruik en overdracht van radioactieve producten zijn onderworpen aan de wetgeving van het land van de eindgebruiker. In geen geval mag het product toegediend worden aan mensen of dieren.

Alle handelingen met radioactief materiaal moeten plaatsvinden in een daartoe bestemde ruimte, waar uitsluitend bevoegd personeel toegelaten wordt. Een logboek met ontvangst en opslag van radioactieve materialen moet worden bijgehouden in het laboratorium. Laboratoriumapparatuur en glaswerk, dat eventueel gecontamineerd werd met radioactieve bestanddelen, moeten worden gesegregeerd om kruisbesmetting van verschillende radioisotopen te vermijden.

Als radioactief materiaal gemorst werd, dan moet dat onmiddellijk gereinigd worden in overeenstemming met de procedure voor stralingsveiligheid. Het radioactieve afval moet worden weggegooid in overeenstemming met de plaatselijke voorschriften en richtlijnen van de autoriteiten waaronder het laboratorium valt. Naleving van de basisregels van stralingsveiligheid zorgt voor een juiste bescherming.

De componenten, afkomstig van menselijk bloed, in deze kit werden getest door in Europa goedgekeurde en/ of door de Amerikaanse FDA goedgekeurde methoden op aanwezigheid van HBsAg, anti-HCV, anti-HIV-1 en 2 en gaven een negatief resultaat. Geen enkele bekende methode kan echter volledige garantie bieden dat derivaten van menselijk bloed geen hepatitis, aids of andere infecties overdragen. Daarom moet men reagentia, serum- of plasmamonsters behandelen in overeenstemming met de plaatselijke veiligheidsprocedures.

Alle producten en derivaten van dierlijke oorsprong zijn afkomstig van gezonde dieren. Boviene componenten komen uit landen waar BSE niet gerapporteerd werd. Toch moeten componenten die bestanddelen van dierlijke oorsprong bevatten, behandeld worden als potentieel infectieus materiaal.

Vermijd dat de reagentia (natriumazide als conserveremiddel) in contact komen met de huid. Azide in deze kit kan reageren met lood en koper in de afvoerleidingen en op die manier zeer explosive metaalaziden vormen. Tijdens de wasfase moeten de afvoerleidingen ruimschoots met water nagespoeld worden om ophoping van azide te vermijden.

Niet roken, drinken, eten of cosmetica aanbrengen in de werkruimte. Niet met de mond pipetteren. Draag beschermende kleding en gebruik wegwerphandschoenen.

XVIII. BIBLIOGRAFIE

1. Archer D.F. (1977). *Current concepts of prolactin physiology in normal and abnormal conditions.* Fertil Steril 28:125.

2. Laufer N., Botero-Ruiz W., De Chemey A.H., et al. (1984). *Gonadotropin and prolactin levels in follicular fluid of human ova successfully fertilized in vitro.* J. Clin. Endocrinol. Metab. 58:430.
3. Leong D.A., Frawley L.S., Neil J.D. (1983). *Neuroendocrine control of prolactin secretion.* An. Rev. of Physiol. 45:109.
4. Seppala M. (1978). *Prolactin and female reproduction.* An. Clin. Res. 10:164.
5. Taylor T.J., Trouson A, Besanko M., Burger H.G., Stockdale J. (1986). *Plasma progesterone and prolactin changes in superovulated women before, during and immediately after laparoscopy for in vitro fertilisation and their relation to pregnancy* Fertil. Steril 45:680.
6. Tyson J.E. (1980) *Changing role of placental lactogen and prolactin in human gestation.* Clin. Obstet. Gynecol 23:737.
7. Kamel M.A et al (1994) *Comparison between prolactin, gonadotropins and steroid hormones in serum and follicular fluid after stimulation with gonadotrophin-releasing hormone agonist and human menopausal gonadotrophin for an in-vitro fertilization program.* Hum. Reprod. 9(10):1803-6.
8. Patel D.D. et al (1994). *Plasma prolactin in patients with colorectal cancer. Value in follow-up and as a prognosticator* Cancer 73(3):570-74.
9. Hattori et al (1994). *Effects of anti-prolactin autoantibodies on serum prolactin measurements.* Eur. J. Endocrinol. 130(5):434-7.
10. Suh H.K. et al (1974). *Size heterogeneity of human Prolactin in plasma and pituitary extracts.* J. Clin. Endocrinol Metab 39 : 928-935.
11. Bonhoff A. et al (1995) *Identification of macroprolactin in a patient with asymptomatic hyperprolactinemia as a stable PRL-IgG complex.* Exp. Clin. Endocrinol. 103 : 252-5

XIX. SAMENVATTING VAN HET PROTOCOL

	TOTAAL-TELLINGEN (ml)	KALIBRA-TORS (ml)	MONSTER(S) CONTROLES (ml)
Kalibrators (0 -5) Monsters, Controles Tracer	- - 0,2	0,025 - 0,2	- 0,025 0,2
Incubatie	2 uur bij kamertemperatuur (18-25°C)		
Scheidung Werk-wasoplossing Scheidung	- - -	opzuigen (decanteren) 2 ml opzuigen (decanteren)	
Telling	Tel de buisjes gedurende 60 seconden		



de

Vor Gebrauch des Kits lesen Sie bitte diese Packungsbeilage.

PRL-IRMA

I. VERWENDUNGSZWECK

Ein Radio-Immunoassay für die quantitative *in vitro* Bestimmung von humanem Prolaktin (PRL) in Serum und Plasma.

II. ALLGEMEINE INFORMATION

- A. **Handelsbezeichnung :** DIAsource PRL-IRMA Kit
- B. **Katalognummer :** KIP1441 : 96 Tests
- C. **Hergestellt von:** DIAsource ImmunoAssays S.A.
Rue du Bosquet, 2, B-1348 Louvain-la-Neuve, Belgien.

Für technische Unterstützung oder Bestellungen wenden Sie sich bitte an:

Tel : +32 (0)10 84.99.11 Fax : +32 (0)10 84.99.91

Für Deutschland : Kostenfreie Rufnummer : 0800 1 00 85 74 - Kostenfreie Faxnummer : 0800 1 00 85 75

E-mail Ordering : ordering@diasource.be

III. KLINISCHER HINTERGRUND

A. Biologische Aktivität

Prolaktin (PRL) ist ein Peptidhormon (Molekulargewicht 20.000 Da), das vom Hypophysenvorderlappen freigesetzt wird. Es spielt eine entscheidende Rolle bei der Entwicklung der Brustdrüse, der Produktion und Sekretion von Milch und der Regulierung der Gonadenfunktion bei Mann und Frau. Der Prolaktinspiegel wird vom Hypothalamus reguliert, der direkt durch Dopamin, einige Prolaktin-Releasing-Factors (PRF) und eventuell VIP (vasoaktives intestinales Polypeptid) oder ein eng verwandtes Peptid gesteuert wird. Auch TRH (Thyrotropin freisetzendes Hormon) wirkt direkt auf Hypophysenniveau, um die Prolaktinsekretion zu stimulieren, aber dessen physiologische Rolle bei der Regulierung der Prolaktinsekretion wurde bisher noch nicht geklärt. Mehrere neuroendokrine Faktoren sind über serotoninerge oder noradrenalinerge Wege ebenfalls an der Regulierung der Prolaktinsekretion beteiligt. Die Konzentration von Prolaktin im Plasma steigt in verschiedenen physiologischen Situationen wie zum Beispiel Stress, Schwangerschaft und Laktation. Physiologische Niveaus variieren nach dem Schlaf-Wach-Rhythmus, nachts wird ein bedeutender Anstieg beobachtet. Arzneimittel mit dem Dopamin entgegenwirkender Aktivität (psychotrope Substanzen) und Ovulationshemmer steigern die Prolaktinsekretion.

B. Klinische Anwendung

- *Prolaktinom:* Die Werte für zirkulierendes Prolaktin sind bei Patienten mit einem Adenom des Hypophysenvorderlappens mit autonomer Sekretion von Prolaktin erhöht. Amenorrhoe und Impotenz sind in solchen Fällen charakteristische klinische Symptome.
- *Andere Hypophysenerkrankungen:* Ein erhöhter Prolaktinspiegel wird auch bei 5 bis 20% der Patienten mit Akromegalie beobachtet sowie in Fällen, in denen die Hypophysenregulierung durch den Hypothalamus unterdrückt ist (Durchtrennung des Hypophysenstiels). Niedrigere PRL-Spiegel können in Fällen völliger Zerstörung der Hypophyse wie beim Sheehan-Syndrom beobachtet werden.
- *Galaktorrhoe und Amenorrhoe:* Die Messung des Prolaktinspiegels im Serum ist ein nützlicher Test in der Differenzialdiagnose von Galaktorrhoe und Amenorrhoe.

IV. GRUNDSÄTZLICHES ZUR DURCHFÜHRUNG

Der DIAsource PRL-IRMA ist ein Radioimmuno-Assay in beschichteten Röhrchen. Mabs1, die Fänger-Antikörper, haften an der unteren inneren Oberfläche des Plastikröhrchens. In die Röhrchen zugegebene Kalibratoren oder Proben zeigen zuerst eine niedrige Affinität zu Mabs1. Zugabe von Mab2, das mit ^{125}I markierten Signalantikörpers, vervollständigt das System und triggert die immunologische Reaktion. Nach dem Waschen gibt die verbleibende, an den Röhrchen haftende Radioaktivität die Antigenkonzentration wieder. Die Verwendung einiger unterschiedlicher Mabs vermeidet die sonst bei zweiseitigem IRMA auftretende Hyperspezifität.

V. MITGELIEFERTE REAGENZIEN

Reagenzien	96 Tests Kit	Farb Code	Rekonstitution
 Mit anti PRL- beschichtete Röhrchen (monoklonale Antikörper)	2 x 48	orange	gebrauchsfertig
Ab ^{125}I TRACER: ^{125}I odmarkierter Anti-PRL (monoklonale Antikörper) in TRIS puffer mit Rinderserum- albumin, Azid (0.5%) und inertem roten Farbstoff	1 Gefäß 22 ml 340 kBq	rot	gebrauchsfertig
CAL 0 Null Kalibrator in Rinderserum und Thymol	1 Gefäß lyophil.	gelb	2 ml dest. Wasser zugeben
CAL N Kalibrator - N = 1 to 5 (genaue Werte auf Gefäß-Etiketten) in Rinderserum und Thymol	5 Gefäße lyophil.	gelb	0,5 ml dest. Wasser zugeben
WASH SOLN CONC Waschlösung (Tris-HCl)	1 Gefäß 10 ml	braun	70 x mit dest. Wasser verdünnen (Magnetrührer benutzen).
CONTROL N Kontrollen - N = 1 or 2 Humanplasma und Thymol	2 Gefäße lyophil.	silber	0,5 ml dest. Wasser zugeben

Bemerkung: 1. Benutzen Sie den Null Kalibrator zur Probenverdünnung.
2. 1 ng der Kalibrationszubereitung ist äquivalent zu 29 μIU NIBSC 3rd IS 84/500.
3. Umwandlungsfaktor : ng/ml x 29 = μUI / ml

VI. ZUSÄTZLICH BENÖTIGTES MATERIAL

Folgendes Material wird benötigt, wird aber nicht mit dem Kit mitgeliefert:

- Dest. Wasser
- Pipetten: 25 μl , 200 μl , 500 μl und 2 ml (Verwendung von Präzisionspipetten mit Wegwerf-Plastikspitzen wird empfohlen)
- 5 ml automatische Spritze (Cornwall Typ) zum Waschen
- Absaugsystem (optional)
- Vortex Mixer
- Magnetrührer
- Jegl. Gamma-Counter, der ^{125}I messen kann, kann verwendet werden. (minimal Yield 70%)

VII. VORBEREITUNG DER REAGENZIEN

- Kalibratoren** : Rekonstituieren Sie den Null Kalibrator mit 2 ml dest. Wasser, die anderen Kalibratoren mit 0,5 ml dest. Wasser.
- Kontrollen** : Rekonstituieren Sie die Kontrollen mit 0,5 ml dest. Wasser.
- Waschlösung**: Bereiten Sie ein angemessenes Volumen Waschlösung aus einem Anteil Waschlösung (70x) mit 69 Anteilen dest. Wasser zu. Verwenden Sie einen Magnetrührer zum gleichmäßigen Durchmischen. Verwerfen Sie die nicht benutzte Waschlösung am Ende des Tages.

VIII. AUFBEWAHRUNG UND LAGERUNG DER REAGENZIEN

- Vor dem Öffnen oder Rekonstitution sind die Reagenzien des Kits bis zum Ablaufdatum (Angaben auf Etikett) bei Lagerung bei 2°C bis 8°C stabil.
- Nach der Rekonstitution sind die Kalibratoren und Kontrollen bei 2°C bis 8°C, 7 Tage stabil. Aliquots müssen bei längerer Aufbewahrung bei -20°C eingefroren werden während max. 3 Monaten. Vermeiden Sie wiederholtes Einfrieren und Auftauen.
- Frisch zubereitete Waschlösung sollte am selben Tag benutzt werden.
- Nach der ersten Benutzung ist der Tracer bei Aufbewahrung im Originalgefäß und bei 2° bis 8° C bis zum Ablaufdatum stabil.
- Veränderungen im Aussehen der Kitkomponenten können ein Anzeichen für Instabilität oder Zerfall sein.

IX. PROBENSAMMLUNG UND -VORBEREITUNG

- Serum- und Plasmaproben müssen bei 2-8°C aufbewahrt werden.
- Falls der Test nicht innerhalb von 24 Std. durchgeführt wird, ist die Aufbewahrung bei -20°C erforderlich.
- Vermeiden Sie wiederholtes Einfrieren und Auftauen.
- Keine hämolytischen Proben benutzen
- Serum- oder Plasmaproben (EDTA und heparinisiertes) liefern ähnliche Ergebnisse.

$$\begin{array}{lll} Y (\text{Hep. plasma}) = 0,90x (\text{serum}) + 0,06 & r = 0,98 & n = 19 \\ Y (\text{EDTA plasma}) = 0,91x (\text{serum}) + 0,46 & r = 0,99 & n = 19 \end{array}$$

X. DURCHFÜHRUNG

A. Bemerkungen zur Durchführung

Verwenden Sie den Kit oder dessen Komponenten nicht nach Ablaufdatum. Vermischen Sie Materialien von unterschiedlichen Kit Chargen nicht. Bringen Sie alle Reagenzien vor der Verwendung auf Raumtemperatur (18-25°C).

Mischen Sie alle Reagenzien und Proben gründlich durch sanftes Schütteln oder Rühren. Verwenden Sie saubere Wegwerf-Pipettenspitzen, um Kreuzkontamination zu vermeiden. Präzisionspipetten oder ein automatisches Pipettensystem erhöhen die Präzision. Achten Sie auf die Einhaltung der Inkubationszeiten. Erstellen Sie für jeden Durchlauf eine Kalibrationskurve, verwenden Sie nicht die Daten von früheren Durchläufen.

B. Durchführung

- Beschriften Sie je 2 beschichtete Röhrchen für jeden Kalibrator, jede Probe und Kontrolle. Zur Bestimmung der Gesamtaktivität, beschriften Sie 2 normale Röhrchen.
- Vortexen Sie Kalibratoren, Kontrollen und Proben kurz und geben Sie jeweils 25 μl in ihre Röhrchen.
- Geben Sie 200 μl des Tracers in jedes Röhrchen.
- Schütteln Sie vorsichtig die Halterung mit den Röhrchen um Blasen zu entfernen.
- Inkubieren Sie 2 Stunden bei Raumtemperatur (18-25°C).
- Saugen Sie den Inhalt jedes Röhrchens ab (oder dekantieren Sie) (außer Gesamtaktivität). Vergewissern Sie sich, dass die Plastikspitze des Absaugers den Boden des beschichteten Röhrchens erreicht, um die gesamte Flüssigkeit zu entfernen.
- Waschen Sie die Röhrchen mit 2 ml Waschlösung (außer Gesamtaktivität) und saugen Sie ab (oder dekantieren Sie). Vermeiden Sie Schaumbildung bei Zugabe der Waschlösung.
- Saugen Sie den Inhalt jeden Röhrchens (außer Gesamtaktivität) ab.
- Lassen Sie die Röhrchen 2 Minuten aufrecht stehen und saugen Sie den verbleibenden Flüssigkeitstropfen ab.
- Werten Sie die Röhrchen in einem Gamma-Counter 60 Sekunden aus.

XI. BERECHNUNG DER ERGEBNISSE

- Berechnen Sie den Durchschnitt aus den Doppelbestimmungen.
- Tragen Sie den c.p.m. (Ordinate) für jeden Kalibrator gegen die entsprechende Konzentration PRL (Abszisse) und zeichnen Sie eine Kalibrationskurve durch die Kalibrationspunkte, schließen Sie offensichtliche „Ausreißer“ aus.
- Berechnen Sie die Konzentration für jede Kontrolle und Probe durch Interpolation aus der Kalibrationskurve.
- Computergestützte Methoden können ebenfalls zur Erstellung der Kalibrationskurve verwendet werden. Falls die Ergebnisberechnung mit dem Computer durchgeführt wird, empfehlen wir die Berechnung mit einer „4 Parameter“-Kurvenfunktion.

XII. TYPISCHE WERTE

Die folgenden Daten dienen nur zu Demonstrationszwecken und können nicht als Ersatz für die Echtzeitkalibrationskurve verwendet werden.

PRL-IRMA		cpm	B/T (%)
Gesamtaktivität		144108	100
Kalibrator	0,0 ng/ml 2,88 ng/ml 8,41 ng/ml 25,50 ng/ml 87,20 ng/ml 205,00 ng/ml	254 1544 3913 9828 24551 41925	0,18 0,90 2,54 6,64 16,86 28,92

XIII. LEISTUNGSMERKMALE UND GRENZEN DER METHODIK

A. Nachweisgrenze

Der LoB (Limit of Blank) wurde durch mehrmaliges Messen des Blindwerts berechnet und als Mittelwert + 2 Standardabweichung der Verteilung der Testwerte berechnet; Der LoB wurde zu 0,18 ng / ml berechnet.

Die LoD (Nachweisgrenze) wurde als LoB + 1,645-Standardabweichung einer Probe mit niedriger Konzentration berechnet, die in 9 verschiedenen Läufen getestet wurde. Die LoD wurde mit 0,76 ng / ml berechnet.

Der LoQ (Limit of Quantification) wurde durch 9-maliges Testen von 5 Proben mit niedrigen Werten berechnet. Der LoQ wurde zu 1,26 ng / ml berechnet.

B. Spezifität

Kreuzreaktive Hormone wurden zu einem minderwertigen und zu einem hochwertigen Kalibrator zugegeben. Das Scheinbare PRL Ergebnis wurde gemessen.

Zugeg. Hormon	Probe 1 ng/ml	Probe 2 ng/ml
-	16,8	57,1
LH 750 mIU/ml	18,0	55,0
hCG 500000 mIU/ml	18,8	56,1
-	16,9	51,9
FSH 500 mIU/ml	17,4	58,8
-	17,0	54,4
hPL 100000 ng/ml	18,0	56,4
-	18,0	56,5
hGH 125 ng/ml	18,3	57,1
-	16,9	52,2
TSH 740 mIU/ml	17,8	54,8

Der DIAsource PRL-IRMA misst Gesamt-PRL, das bedeutet sowohl das aktive Prolaktin Monomer, als auch das biologisch inaktive Makroprolaktin (Siehe Referenzen 10 und 11)

Für Patienten die mit diesem Kit einen erhöhten PRL-Spiegel zeigen, sollten zusätzliche Informationen für eine korrekte Diagnose beachtet werden.

Die potenziell störenden Wirkungen von Hämoglobin bei 500 mg / dl und von Bilirubin bei 100 mg / dl wurden bewertet. Die Ergebnisse dieses Tests zeigen keine signifikanten Störungen, wie in der folgenden Tabelle gezeigt. Bei einer Konzentration von 62,5 mg / dl wurde jedoch eine Störung der Triglyceride beobachtet, wie in der folgenden Tabelle gezeigt. Daher sollten lipämische Proben vermieden werden.

Störsubstanz	Plasma 1 (ng/ml)	Plasma 2 (ng/ml)	Serum 1 (ng/ml)
-	17,8	56,6	13,2
Hämoglobin	18,2	57,1	13,4
-	18,7	54,8	14,0
Bilirubin	18,0	57,5	13,8
-	19,3	64,1	13,1
Triglyceride	16,7	47,6	11,3

C. Präzision

INTRA ASSAY

Probe	N	$\text{} \pm \text{SD}$ (ng/ml)	CV (%)	Probe	N	$\text{} \pm \text{SD}$ (ng/ml)	CV (%)
A	10	19,4 ± 0,5	2,6	A	15	20,3 ± 0,7	3,5
B	10	63,1 ± 1,5	2,4	B	15	63,6 ± 2,4	3,7

SD : Standardabweichung; CV: Variationskoeffizient

D. Genauigkeit

WIEDERFINDUNGSTEST

Probe	Zugeg. PRL (ng/ml)	Wiedergef. PRL (ng/ml)	Wiedergefundene (%)
1	63 78,1 104,7 112,7	59,7 80,7 102,4 117,3	94,7 103,3 97,7 104,1
2	63 78,1 104,7 112,7	58,0 75,7 101,3 112,1	92,0 96,9 96,7 99,5

VERDÜNNUNGSTEST

Probe	Verdünn.	Theoret. Konz. (ng/ml)	Gemess. Konz. (ng/ml)
1	1/1 1/2 1/4 1/8	- 75,7 37,9 18,9	151,5 81,6 38,5 16,7
2	1/1 1/2 1/4 1/8 1/16	- 91,7 45,8 22,9 11,5	183,4 104,1 47,9 22,4 10,1

Die Proben wurden mit Null Kalibrator verdünnt.

E. Zeitverzögerung zwischen letzter Kalibrator- und Probenzugabe

Es wird im folgenden gezeigt, dass die Genauigkeit der Tests selbst dann erhalten bleibt, wenn die Probe 60 Minuten nach Zugabe des Kalibrators in die beschichteten Röhrchen zugefügt wird.

ZEITABSTAND				
	0' (ng/ml)	15' (ng/ml)	30' (ng/ml)	60' (ng/ml)
Probe 1	19,5	20,2	21,3	20,4
Probe 2	67,4	65,2	64,3	63,4

F. Hookeffekt

Eine Serumprobe mit PRL bis zu 16000 ng/ml liefert höhere Messwerte als der letzte Kalibratorwert.

Messbereich: 1,26 (LoQ) bis 16000 ng / ml (Hookeffekt)

XIV. ANWENDUNGSGRENZEN

- Proben von Patienten, die Zubereitungen von monoklonalen Maus-Antikörpern zur Diagnose oder Therapie erhalten haben, können humane Anti-Maus Antikörper (HAMA) enthalten. Solche Proben können entweder falsch erhöhte oder zu niedrige Werte ergeben, wenn sie mit Testsystemen getestet werden, die monoklonale Maus Antikörper enthalten.
- Heterophile Antikörper im humanen Serum können mit Immunglobulinen der Reagenzien reagieren und so mit in vitro Immunoassays interferieren. Patienten, die routinemäßigen Umgang mit Tieren oder Tierseren haben, können zu dieser Interferenz neigen und so können anomale Werte in Gegenwart von heterophilen Antikörpern beobachtet werden. Ergebnisse von Patienten, bei denen diese Antikörper vermutet werden, müssen sorgfältig evaluiert werden.

Wenn die Ergebnisse nicht mit anderen klinischen Beobachtungen übereinstimmen, sollten weitere Informationen vor der Diagnosestellung ermittelt werden.

XV. INTERNE QUALITÄTSKONTROLLE

- Entsprüchen die Ist-Werte nicht den auf den Fläschchen angegebenen Soll-Werten, können die Werte, ohne treffende Erklärung der Abweichungen, nicht weiterverarbeitet werden.
- Falls Extra-Kontrollen erwünscht sind, kann jedes Labor seinen eigenen Pool herstellen, der in Aliquots eingefroren werden sollte.
- Akzeptanzkriterien für die Differenz zwischen den Resultaten der Wiederholungstests anhand der Proben müssen auf Guter Laborpraxis beruhen.

XVI. REFERENZINTERVALLE

Diese Werte sind nur Richtwerte; jedes Labor muss seinen eigenen Normalwertbereich ermitteln.

PRL-Konzentrationen wurden in Serumproben von verschiedenen Kategorien von gesunden Personen gemessen.

Identifikation	Anz. der Personen	Mittelwert (ng/ml)	Bereich (2,5-97,5 Perzentile) (ng/ml)
Männer	40	8,5	3,0 – 18,8
Frauen (18-60 Jahre)	31	9,2	3,0 – 16,5
Frauen (> 60 Jahre)	37	7,2	3,8 – 18,1

XVII. VORSICHTMASSNAHMEN UND WARNUNGEN

Sicherheit

Nur für diagnostische Zwecke.

Dieser Kit enthält ^{125}I (Halbwertzeit: 60 Tagen), das ionisierende X (28 keV) und γ (35,5 keV) Strahlungen emittiert.

Dieses radioaktive Produkt kann nur an autorisierte Personen abgegeben und darf nur von diesen angewendet werden; Erwerb, Lagerung, Verwendung und Austausch radioaktiver Produkte sind Gegenstand der Gesetzgebung des Landes des jeweiligen Endverbrauchers. In keinem Fall darf das Produkt an Menschen oder Tieren angewendet werden.

Der Umgang mit radioaktiven Substanzen sollte fern von Durchgangsverkehr in einem speziell ausgewiesenen Bereich stattfinden. Ein Logbuch für Protokolle und Aufbewahrung muss im Labor sein. Die Laborausrüstung und die Glasbehälter, die mit radioaktiven Substanzen kontaminiert werden können, müssen ausgesondert werden, um Kreuzkontaminationen mit unterschiedlichen Radioisotopen zu verhindern. Verschüttete radioaktive Substanzen müssen sofort den Sicherheitsbestimmungen entsprechend entfernt werden. Radioaktive Abfälle müssen entsprechend den lokalen Bestimmungen und Richtlinien der für das Labor zuständigen Behörden gelagert werden. Das Einhalten der Sicherheitsbestimmungen für den Umgang mit radioaktiven Substanzen gewährleistet ausreichenden Schutz.

Die menschlichen Blutkomponenten in diesem Kit wurden mit europäischen und in USA erprobten FDA Methoden getestet, sie waren negativ für HBsAG, anti-HCV und anti-HIV 1 und 2. Keine bekannte Methode kann jedoch vollkommene Sicherheit liefern, dass menschliche Blutbestandteile nicht Hepatitis, AIDS oder andere Infektionen übertragen. Deshalb sollte der Umgang mit Reagenzien, Serum oder Plasmaproben in Übereinstimmung mit den Sicherheitsbestimmungen erfolgen.

Alle tierischen Produkte und deren Derivate wurden von gesunden Tieren gesammelt. Komponenten von Rindern stammen aus Ländern in denen BSE nicht nachgewiesen wurde.

Trotzdem sollten Komponenten, die tierische Substanzen enthalten, als potenziell infektiös betrachtet werden.

Vermeiden Sie Hautkontakt mit den Reagenzien (Natriumazid als Konservierungsmittel). Das Azid in diesem Kit kann mit Blei oder Kupfer in den Abflussrohren reagieren und so hochexplosive Metallazide bilden. Spülen Sie während der Waschschriften den Abfluss gründlich mit viel Wasser, um die Metallazidbildung zu verhindern.

Bitte rauchen, trinken, essen oder wenden Sie Kosmetika nicht in Ihrem Arbeitsbereich an. Pipettieren Sie nicht mit dem Mund. Verwenden Sie Schutzkleidung und Wegwerfhandschuhe.

Current concepts of prolactin physiology in normal and abnormal conditions.

Fertil Steril 28:125.

2. Laufer N., Botero-Ruiz W., De Chemey A.H., et al. (1984). **Gonadotropin and prolactin levels in follicular fluid of human ova successfully fertilized in vitro.** J. Clin. Endocrinol. Metab. 58:430.
3. Leong D.A., Frawley L.S., Neil J.D. (1983). **Neuroendocrine control of prolactin secretion.** An. Rev. of Physiol. 45:109.
4. Seppala M. (1978). **Prolactin and female reproduction.** An. Clin. Res. 10:164.
5. Taylor T.J., Trouson A., Besanko M., Burger H.G., Stockdale J. (1986). **Plasma progesterone and prolactin changes in superovulated women before, during and immediately after laparoscopy for in vitro fertilisation and their relation to pregnancy** Fertil. Steril 45:680.
6. Tyson J.E. (1980) **Changing role of placental lactogen and prolactin in human gestation.** Clin. Obstet.Gynecol 23:737.
7. Kamel M.A et al (1994) **Comparison between prolactin, gonadotropins and steroid hormones in serum and follicular fluid after stimulation with gonadotrophin-releasing hormone agonist and human menopausal gonadotrophin for an in-vitro fertilization program.** Hum. Reprod. 9(10):1803-6.
8. Patel D.D. et al (1994). **Plasma prolactin in patients with colorectal cancer. Value in follow-up and as a prognosticator** Cancer 73(3):570-74.
9. Hattori et al (1994). **Effects of anti-prolactin autoantibodies on serum prolactin measurements.** Eur. J. Endocrinol. 130(5):434-7.
10. Suh H.K. et al (1974). **Size heterogeneity of human Prolactin in plasma and pituitary extracts.** J. Clin. Endocrinol Metab 39 : 928-935.
11. Bonhoff A. et al (1995) **Identification of macroprolactin in a patient with asymptomatic hyperprolactinemia as a stable PRL-IgG complex.** Exp. Clin. Endocrinol. 103 : 252-5

XIX. ZUSAMMENFASSUNG DES PROTOKOLLS

	GESAMT-AKTIVITÄT (ml)	KALIBRA-TOREN (ml)	PROBE(N) KONTROLLEN (ml)
Kalibratoren (0-5) Proben, Kontrollen Tracer	- - 0,2	0,025 - 0,2	- 0,025 0,2
Inkubation	2 Std. bei Raumtemperatur (18-25°C)		
Trennung Waschlösung Trennung	- -	absaugen (oder dekant.) 2 ml absaugen (oder dekant.)	
Gamma Counter	60 Sekunden messen		

XVIII. LITERATUR

1. Archer D.F. (1977).



es

Leer el protocolo completo antes de usar.

PRL-IRMA

I. INSTRUCCIONES DE USO

Kit para ensayo inmunoradiometrico para la determinación cuantitativa in vitro de prolactina humana (PRL) en suero y plasma.

II. INFORMACIÓN GENERAL

- A. **Nombre:** DIAsource PRL-IRMA Kit
- B. **Número de Catálogo:** KIP1441 : 96 tests
- C. **Fabricado por:** DIAsource ImmunoAssays S.A.
Rue du Bosquet, 2, B-1348 Louvain-la-Neuve, Belgium.

Para cuestiones técnicas y información sobre pedidos contactar:
Tel : +32 (0)10 84.99.11 Fax : +32 (0)10 84.99.91

III. INFORMACIÓN CLÍNICA

A. Actividades biológicas

La prolactina (PRL) es una hormona polipeptídica (peso molecular 20,000 Da) secretada por la hipófisis, que juega un papel clave en el desarrollo de la glándula mamaria, la producción y secreción de leche y el control de la función gonadal femenina y masculina. La secreción de la prolactina está bajo el control del hipotálamo ejercido directamente por la dopamina, varios factores liberadores de prolactina (PRF) y tal vez VIP (polipéptido intestinal vasoactivo) o un péptido estrechamente relacionado. La TRH (Hormona liberadora de la tirotropina) también actúa directamente a nivel de la hipófisis para estimular la liberación de prolactina pero su rol fisiológico en relación al control de la secreción de prolactina no ha sido establecido aún. Varios factores neuro endocrinos, que involucran vías serotoninérgicas o noradrenérgicas también están relacionados con el control de la secreción de la prolactina. La concentración plasmática de prolactina, aumenta en varias situaciones fisiológicas tales como estrés, embarazo y lactancia. Los niveles fisiológicos fluctúan de acuerdo con un ritmo nictémico, donde se observa un aumento significativo durante la noche. Las drogas con actividad anti dopamínica (agentes psicotrópicos) y supresores de la ovulación, aumentan la secreción de prolactina.

B. Aplicación clínica

- *Prolactinoma* : Los niveles de prolactina circulante están aumentados en pacientes con un adenoma hipofisario secretor de prolactina. En estos casos, la amenorrea y la impotencia son síntomas clínicos característicos.
- *Otras enfermedades de la hipófisis* : También se observan niveles aumentados de prolactina en 5% a 20% de los pacientes con acromegalía y cuando se suprime el control de la hipófisis por el hipotálamo (sección del tallo hipofisario). Se pueden observar niveles disminuidos de PRL en casos de destrucción total de la hipófisis, como en el síndrome de Sheehan.
- *Galactorrea y amenorrea* : La medición de los niveles de prolactina en el suero es una prueba útil en el diagnóstico diferencial de galactorrea y amenorrea.

IV. PRINCIPIOS DEL MÉTODO

DiaSource PRL-IRMA es un ensayo inmunoradiométrico basado en un tubo recubierto. Mab1, el anticuerpo de captura, recubre la parte interna inferior del tubo de plástico. Los calibradores o muestras agregadas a los tubos manifestarán al principio una baja afinidad por Mab1. La adición de Mab2, el anticuerpo de señal marcado con ^{125}I , completa el sistema y desencadena la reacción inmunológica. Después de lavar, la radioactividad remanente en el tubo refleja la concentración del antígeno. El uso de varios anticuerpos monoclonales distintos evita la híper especificidad.

V. REACTIVOS SUMINISTRADOS

Reactivos	96 test Kit	Código de Color	Reconstitución
Tubos recubiertos con anti-PRL (anticuerpo monoclonal)	2 x 48	naranja	Listo para uso
Anti-PRL- ^{125}I (anticuerpo monoclonal) en tampon TRIS con albúmina de suero bovino, azida de sodio (0,5 %) y colorante rojo inerte	1 vial 22 ml 340 kBq	rojo	Listo para uso
CAL 0 Calibrador Cero en suero bovino con timol	1 vial lioofilizado	amarillo	Añadir 2,0 ml de agua destilada
CAL N Calibradores 1-5 en suero bovino con timol (mirar los valores exactos en las etiquetas)	5 viales lioofilizados	amarillo	Añadir 0,5 ml de agua destilada
WASH SOLN CONC Solución de lavado (TRIS-HCl)	1 vial 10 ml	marrón	Diluir 70 x con agua destilada (utilizar agitador magnético)
CONTROL N Controles - N = 1 o 2 en plasma humano y timol	2 viales lioofilizados	plateado	Añadir 0,5 ml de agua destilada

Nota: 1. Use el calibrador cero para diluir muestras.

2. 1 ng de la preparación del calibrador es equivalente a 29 μIU de NIBSC 3rd IS 84/500.
3. Factor de conversión: ng/ml x 29 = $\mu\text{UI} / \text{ml}$

VI. MATERIAL NO SUMINISTRADO

El material mencionado a continuación es necesario y no está incluido en el kit

1. Agua destilada
2. Pipetas de 25 μl , 200 μl , 500 μl y 2 ml (Se recomienda el uso de pipetas precisas con puntas desechables de plástico)
3. Vortex
4. Agitador magnético
5. Jeringa automática 5 ml (tipo Cornwall) para el lavado
6. Sistema de aspiración (opcional)
7. Contador de radiaciones gamma para medir I^{125} (mínima eficiencia 70%)

VII. PREPARACIÓN DE REACTIVOS

- A. Calibradores:** Reconstituya el calibrador cero con 2 ml de agua destilada y los otros calibradores con 0,5 ml de agua destilada.
- B. Controles:** Reconstituya los controles con 0,5 ml de agua destilada.
- C. Solución de lavado de trabajo:** Preparar el volumen necesario de Solución de lavado de trabajo mezclando 69 partes de agua destilada por 1 parte de Solución de lavado (70x). Utilizar un agitador magnético para homogeneizar. Desechar la solución de lavado de trabajo no utilizada al final del día.

VIII. ALMACENAJE Y CADUCIDADES DE LOS REACTIVOS

- Antes de abrir o reconstituir todos los componentes de los kits son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, si se guardan a 2-8°C.
- Después de reconstituidos los calibradores y controles son estables por 7 días a 2-8°C.
- Para períodos de almacenaje más largos, se deben preparar alícuotas y deben ser almacenadas a -20°C por 3 meses. Evitar congelar y descongelar sucesivamente.
- La solución de lavado de trabajo recién preparada solo debe utilizarse en el mismo día.
- Después del primer uso, el trazador es estable hasta la fecha de caducidad, si se guarda en el vial original cerrado a 2-8°C.
- Las alteraciones de los reactivos en el aspecto físico pueden indicar inestabilidad o deterioro.

IX. RECOGIDA Y PREPARACIÓN DE MUESTRAS

- Las muestras de suero y plasma deben ser guardadas a 2-8°C.
- Si el ensayo no se realiza en 24 hrs., almacenar las muestras a -20°.
- Evitar congelar y descongelar sucesivamente.
- No use muestras lipémicas.
- El suero o el plasma (EDTA y heparina) proporcionan resultados similares.

$$\begin{aligned} Y (\text{hep. plasma}) &= 0.90x (\text{suero}) + 0.06 & r = 0.98 & n = 19 \\ Y (\text{EDTA plasma}) &= 0.91x (\text{suero}) + 0.46 & r = 0.99 & n = 19 \end{aligned}$$

X. PROTOCOLO

A. Notas de manejo

No utilizar el kit o componentes después de la fecha de caducidad. No mezclar reactivos de diferente número de lote. Llevar todos los reactivos a temperatura ambiente (18-25°C) antes de su uso.
Agitar minuciosamente todos los reactivos y muestras, agitándolos o girándolos suavemente.
Con el fin de evitar ninguna contaminación utilizar puntas de pipetas desechables y limpias para la adición de cada reactivo y muestra.
El uso de pipetas de precisión o equipamiento de dispensación automática mejorara la precisión. Respetar los tiempos de incubación.
Preparar la curva de calibración en cada ensayo, no utilizar los datos de un ensayo previo.

B. Protocolo

1. Marcar los tubos recubiertos por duplicado para cada uno de los estándares, muestras y controles. Para la determinación de las Cuentas Totales, marcar 2 tubos normales.
2. Agitar brevemente los calibradores, muestras y controles y dispensar 25 μl de cada uno en sus respectivos tubos.
3. Dispensar 200 μl de anti PRL marcado con $^{125}\text{Yodo}$ en cada tubo, incluyendo los tubos correspondientes a las Cuentas Totales.
4. Agite suavemente con la mano la gradilla que contiene los tubos para soltar cualquier burbuja de aire atrapada.
5. Incubar durante 2 horas a temperatura ambiente (18-25°C).
6. Aspirar (o decantar) el contenido de cada tubo (excepto los de Cuentas Totales). Asegurarse que la punta de la pipeta de aspiración toca el fondo del tubo con el fin de aspirar todo el líquido.
7. Lavar los tubos con 2 ml de Solución de lavado de trabajo (excepto los de Cuentas Totales). Evitar la formación de espuma durante la adición de la Solución de lavado.
8. Aspirar (o decantar) el contenido de cada tubo (excepto los de Cuentas Totales).
9. Dejar los tubos en posición inversa durante 2 minutos y aspirar el líquido restante.
10. Medir la actividad de cada tubo durante 60 segundos en un Contador Gamma.

XI. CÁLCULO DE RESULTADOS

1. Calcular la media de los duplicados.
2. Representar las c.p.m. (ordenada) para cada calibrador frente a las concentraciones de PRL (abscisa) y dibujar una curva de calibración por los puntos de calibración, rechazando los extremos claros.
3. Leer la concentración para cada control y muestra por interpolación en la curva de calibración.
4. Métodos computarizados de computación de resultados pueden ser utilizados para la construcción de la curva de calibración. Si se utiliza un sistema automático de cálculo de resultados, se recomienda usar la representación gráfica "4 parámetros".

XII. EJEMPLO DE RESULTADOS

Los datos mostrados a continuación sirven como ejemplo y nunca deberán ser usados como una calibración real.

PRL-IRMA		cpm	B/T (%)
Cuentas Totales		144108	100
Calibrador	0,0 ng/ml	254	0,18
	2,88 ng/ml	1544	0,90
	8,41 ng/ml	3913	2,54
	25,50 ng/ml	9828	6,64
	87,20 ng/ml	24551	16,86
	205,00 ng/ml	41925	28,92

XIII. REALIZACIÓN Y LIMITACIONES

A. Límite de detección

El LoB (Límite de blanco) se calculó midiendo el blanco varias veces y se calculó como la media + 2 desviación estándar de la distribución de los valores de prueba; Se calculó que el LoB era de 0,18 ng / ml.

El LoD (Límite de detección) se calculó como la desviación estándar LoB + 1.645 de una muestra de baja concentración probada en 9 análisis diferentes. El LoD se calculó en 0,76 ng / ml.

El LoQ (Límite de cuantificación) se calculó probando 5 muestras de valores bajos, 9 veces. La LoQ se calculó en 1,26 ng / ml.

B. Especificidad

Se agregaron hormonas de reacción cruzada a calibradores con valores de PRL altos y bajos. Se midió la respuesta aparente de PRL.

Hormona agregada	Muestra 1 ng/ml	Muestra 2 ng/ml
-	16,8	57,1
LH 750 mIU/ml	18,0	55,0
hCG 500000 mIU/ml	18,8	56,1
-	16,9	51,9
FSH 500 mIU/ml	17,4	58,8
-	17,0	54,4
hPL 100000 ng/ml	18,0	56,4
-	18,0	56,5
hGH 125 ng/ml	18,3	57,1
-	16,9	52,2
TSH 740 mIU/ml	17,8	54,8

El DIAsource PRL-IRMA mide PRL total, o sea el monómero de prolactina activo y la macroprolactina biológicamente inactiva (vea las referencias 10 y 11). Para pacientes que presentan niveles de PRL aumentados con este kit, se deberá obtener información adicional para establecer un diagnóstico correcto.

Se han evaluado los efectos potencialmente interferentes de la hemoglobina a 500 mg / dl y de la bilirrubina a 100 mg / dl. Los resultados de esta prueba no demuestran ninguna interferencia significativa como se muestra en la tabla a continuación. Sin embargo, se ha observado una interferencia con los triglicéridos a partir de una concentración de 62,5 mg / dl como se muestra en la tabla a continuación. Por lo tanto, se deben evitar las muestras lipémicas.

Sustancia interferente	Plasma 1 (ng/ml)	Plasma 2 (ng/ml)	Suero 1 (ng/ml)
- Hemoglobina	17,8	56,6	13,2
	18,2	57,1	13,4
- Bilirrubina	18,7	54,8	14,0
	18,0	57,5	13,8
- Triglicéridos	19,3	64,1	13,1
	16,7	47,6	11,3

C. Precisión

INTRA-ENSAYO

INTER-ENSAYO

Muest	N	\times S.D. (ng/ml)	CV (%)	Muest	N	\times S.D. (ng/ml)	CV (%)
A	10	19,4 ± 0,5	2,6	A	15	20,3 ± 0,7	3,5
B	10	63,1 ± 1,5	2,4	B	15	63,6 ± 2,4	3,7

SD : Desviación Estándar; CV: Coeficiente de Variación

D. Exactitud

TEST DE RECUPERACIÓN

Muestra	añadido PRL (ng/ml)	Recuperado PRL (ng/ml)	Recuperado (%)
1	63	59,7	94,7
	78,1	80,7	103,3
	104,7	102,4	97,7
	112,7	117,3	104,1
2	63	58,0	92,0
	78,1	75,7	96,9
	104,7	101,3	96,7
	112,7	112,1	99,5

TEST DILUCIÓN

Muestra	Dilución	Concent. Teórica (ng/ml)	Concent. Medida (ng/ml)
1	1/1	-	151,5
	1/2	75,7	81,6
	1/4	37,9	38,5
	1/8	18,9	16,7
2	1/1	-	183,4
	1/2	91,7	104,1
	1/4	45,8	47,9
	1/8	22,9	22,4
	1/16	11,5	10,1

Las muestras fueron diluidas con calibrador cero

E. Retardo de tiempo entre dispensar el último calibrador y la muestra

Como se muestra a continuación, los resultados del ensayo no varían a pesar de que una muestra es dispensada 60 min. después que el calibrador ha sido agregado a los tubos plásticos.

RETARDO DE TIEMPO

	0' (ng/ml)	15' (ng/ml)	30' (ng/ml)	60' (ng/ml)
Muestra 1	19,5	20,2	21,3	20,4
Muestra 2	67,4	65,2	64,3	63,4

F. Efecto de gancho

Una muestra de suero con una concentración de 16000 ng/ml PRL da una señal por sobre la concentración del calibrador más alto.

Rango de medición: 1.26 (LoQ) a 16000 ng / ml (efecto de gancho)

XIV. LIMITACIONES

- Es posible que las muestras de pacientes que han recibido preparaciones de anticuerpos monoclonales de ratón para diagnóstico o terapia, puedan contener anticuerpos humanos anti ratón (HAMA). Los resultados de estas muestras analizadas con kits que utilizan anticuerpos monoclonales de ratón, pueden dar valores falsamente aumentados o disminuidos.
- Los anticuerpos heterófilos en el suero humano pueden reaccionar con las inmunoglobulinas que forman parte del reactivo, interfiriendo con los inmunoensayos *in vitro*. Pacientes que en forma rutinaria están en contacto con animales o productos derivados de suero animal, pueden tender a presentar esta interferencia y se pueden observar valores anómalos en caso de haber

presencia de anticuerpos heterófilos. Evalúe cuidadosamente los resultados de aquellos pacientes sospechosos de tener estos anticuerpos. Si los resultados no concuerdan con otras observaciones clínicas, será necesario obtener información adicional antes de hacer un diagnóstico.

XV. CONTROL DE CALIDAD INTERNO

- Si los resultados obtenidos para el Control 1 y/o Control 2 no están dentro del rango especificado en la etiqueta del vial, los resultados obtenidos no podrán ser utilizados a no ser que se pueda dar una explicación convincente de dicha discrepancia.
- Si es conveniente, - cada laboratorio puede utilizar sus propios pools de controles, los cuales se guardan en alvéolos congelados. No congelar y descongelar más de dos veces.
- Los criterios de aceptación de la diferencia entre los resultados de los duplicados de las muestras se apoyan en las prácticas de laboratorio corrientes.

XVI. INTERVALOS DE REFERENCIA

Estos valores solamente sirven de pauta; cada laboratorio tiene que establecer sus propios valores normales.

Las concentraciones de PRL se midieron en muestras de suero obtenidas de diferentes categorías de individuos sanos.

Identificación	Número de individuos	Promedio (ng/ml)	Rango (percentiles 2.5-97.5) (ng/ml)
Hombres	40	8,5	3,0 – 18,8
Mujeres (18-60 años)	31	9,2	3,0 – 16,5
Mujeres (> 60 años)	37	7,2	3,8 – 18,1

XVII. PRECAUCIONES Y ADVERTENCIAS

Seguridad

Para uso solo en diagnóstico in vitro.

Este kit contiene I¹²⁵ (vida media : 60 días) emisor de rayos X (28 keV) y de rayos γ (35,5 keV) ionizantes.

Este producto radiactivo solo puede ser manejado y utilizado por personas autorizadas; la compra, almacenaje, uso y cambio de productos radiactivos están sujetos a la legislación del país del usuario. En ningún caso el producto deberá ser suministrado a humanos y animales.

Todo el manejo de producto radiactivo se hará en un área señalizada, diferente de la de paso regular. Deberá de utilizarse un libro de registros de productos radiactivos utilizados. El material de laboratorio, vidrio que podría estar contaminado radiactivamente deberá de descontaminarse para evitar la contaminación con otros isótopos.

Cualquier derramamiento radiactivo deberá ser limpiado de inmediato de acuerdo con los procedimientos de seguridad. Los desperdicios radiactivos deberán ser almacenados de acuerdo con las regulaciones y normativas vigentes de la legislación a la cual pertenece el laboratorio. El ajustarse a las normas básicas de seguridad radiológica facilita una protección adecuada.

Los componentes de sangre humana utilizados en este kit han sido testados por métodos aprobados por la CEE y/o la FDA dando negativo a HBsAg, anti-HCV, anti-HIV-1 y 2. No se conoce ningún método que asegure que los derivados de la sangre humana no transmitan hepatitis, SIDA o otras infecciones. Por lo tanto el manejo de los reactivos y muestras se hará de acuerdo con los procedimientos de seguridad locales.

Todos los productos animales y derivados han sido obtenidos a partir de animales sanos. Componentes bovinos originales de países donde BSE no ha sido informado. Sin embargo, los componentes contenido substancias animales deberán ser considerados como potencialmente infecciosos.

Evitar cualquier contacto de los reactivos con la piel (azida sódica como conservante). La azida en este kit puede reaccionar con el plomo y cobre de las cañerías y producir azidas metálicas altamente explosivas. Durante el proceso de lavado, hacer circular mucha cantidad de agua por el sumidero para evitar el almacenamiento de la azida.

No fumar, beber, comer o utilizar cosméticos en el área de trabajo. No pipetejar con la boca. Utilizar ropa de protección y guantes.

XVIII. BIBLIOGRAFIA

1. Archer D.F. (1977). **Current concepts of prolactin physiology in normal and abnormal conditions.** Fertil Steril 28:125.
2. Laufer N., Botero-Ruiz W., De Chemey A.H., et al. (1984).

Gonadotropin and prolactin levels in follicular fluid of human ova successfully fertilized in vitro.

J. Clin. Endocrinol. Metab. 58:430.

3. Leong D.A., Frawley L.S., Neil J.D. (1983). **Neuroendocrine control of prolactin secretion.** An. Rev. of Physiol. 45:109.
4. Seppala M. (1978). **Prolactin and female reproduction.** An. Clin. Res. 10:164.
5. Taylor T.J., Trouson A., Besanko M., Burger H.G., Stockdale J. (1986). **Plasma progesterone and prolactin changes in superovulated women before, during and immediately after laparoscopy for in vitro fertilisation and their relation to pregnancy** Fertil. Steril 45:680.
6. Tyson J.E. (1980) **Changing role of placental lactogen and prolactin in human gestation.** Clin. Obstet. Gynecol 23:737.
7. Kamel M.A et al (1994) **Comparison between prolactin, gonadotropins and steroid hormones in serum and follicular fluid after stimulation with gonadotrophin-releasing hormone agonist and human menopausal gonadotrophin for an in-vitro fertilization program.** Hum. Reprod. 9(10):1803-6.
8. Patel D.D. et al (1994). **Plasma prolactin in patients with colorectal cancer. Value in follow-up and as a prognosticator** Cancer 73(3):570-74.
9. Hattori et al (1994). **Effects of anti-prolactin autoantibodies on serum prolactin measurements.** Eur. J. Endocrinol. 130(5):434-7.
10. Suh H.K. et al (1974). **Size heterogeneity of human Prolactin in plasma and pituitary extracts.** J. Clin. Endocrinol Metab 39 : 928-935.
11. Bonhoff A. et al (1995) **Identification of macroprolactin in a patient with asymptomatic hyperprolactinemia as a stable PRL-IgG complex.** Exp. Clin. Endocrinol. 103 : 252-5

XIX. RESUMEN DEL PROTOCOLO

	CUENTAS TOTALES ml	CALIBRADORES ml	MUESTRAS/CONTROLES ml
Calibradores (0 a 5) Muestras, Controles Trazador	- 0,200	0,025 - 0,200	- 0,025 0,200
Incubación			2 horas a temperatura ambiente (18-25°C)
Separación Solución de Lavado Separación	-	Aspirar (o decantar) 2 ml Aspirar (o decantar)	
Contaje			Contar los tubos durante 60 segundos



pt

Leia todo o protocolo antes de utilizar.

PRL-IRMA

I. UTILIZAÇÃO PREVISTA

Kit de ensaio imunoradiométrico para mensuração quantitativa in vitro de prolactina humana (PRL) no soro e plasma.

II. INFORMAÇÃO GERAL

A. Nome do proprietário : DIAsource PRL-IRMA Kit

B. Nº de catálogo : KIP1441: 96 testes

C. Produzido por : DIAsource ImmunoAssays S.A.
Rue du Bosquet, 2, B-1348 Louvain-la-Neuve, Belgium.

Para assistência técnica ou encomendas contacte :

Tel : +32 (0)10 84.99.11 Fax : +32 (0)10 84.99.91

III. FUNDAMENTAÇÃO CLÍNICA

A. Actividades biológicas

A prolactina (PRL) é uma hormônio polipeptídico (peso molecular 20000 Da) secretada pela glândula pituitária, que desempenha um papel chave no desenvolvimento da glândula mamaria, a produção e secreção de leite e o controle das funções das gónadas masculinas e femininas. Secreção de prolactina está sob controle do hipotálamo exercida diretamente pela dopamina, vários fatores de liberação de prolactina (PRF) e talvez VIP (peptídeo intestinal vasoativo) ou um peptídeo estreitamente relacionados. TRH (Hormônio liberador de tireotrofina) também atua diretamente ao nível da glândula pituitária para estimular a liberação de prolactina, mas a sua função fisiológica no controle da secreção de prolactina, ainda não foi estabelecida. Vários fatores neuroendócrinos, envolvendo vias noradrenérgica ou serotoninérgica também estão envolvidos no controle da secreção de prolactina. A concentração plasmática de prolactina aumenta em várias situações fisiológicas, tais como stress, gravidez e lactação. Níveis fisiológicos podem flutuar de acordo com um ritmo de 24h, tendo um aumento significativo observado durante a noite. Drogas com atividade anti dopamina (psicotrópicos) e supressores ovulatórios, aumentam a secreção de prolactina.

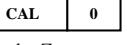
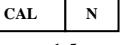
B. Aplicação clínica

- *Prolactinoma:* Os níveis de prolactina circulantes estão elevados em pacientes com adenoma hipofisário secretor de prolactina. Amenorréia e impotência são os sintomas clínicos característicos nesses casos.
- *Outras doenças da hipófise:* o aumento dos níveis de prolactina também são observadas em 5% a 20% dos pacientes com acromegalia e quando o controle da hipófise pelo hipotálamo é suprimida (hipófise caule seção). Níveis diminuídos de prolactina podem ser observados em casos de destruição completa da pituitária como na síndrome de Sheehan.
- *Galactorréia e amenorréia:* A medição dos níveis de prolactina no soro é um teste útil no diagnóstico diferencial de galactorréia e amenorréia.

IV. PRINCIPIOS DO MÉTODO

O DIAsource PRL-Irma é um ensaio imunoradiométrico baseado na separação em tubo revestido. Os Mabs1, capturadores de anticorpos (Ac), são ligados à superfície interna inferior, do tubo de plástico. Os calibradores ou amostras adicionados aos tubos vão inicialmente, demonstrar baixa afinidade para o Mabs1. A adição do Mab2, O Ac sinal, marcado com ^{125}I , vai completar o sistema e despoletar a reacção imunológica. Depois da lavagem, a actividade radioactiva remanescente ligada ao tubo, reflecte a concentração de antígeno. A utilização de vários Acs monoclonais diferentes evita a hiperespecificidade.

V. REAGENTES FORNECIDOS

Reagentes	Quantidade 96 testes	Código de cor	Reconstituição
 Tubos revestidos com anti PRL (Acs monoclonais)	2 x 48	laranja	Pronto a utilizar
	1 vial 22 ml 340 kBq	vermelho	Pronto a utilizar
Anti-PRL- ^{125}I (Acs monoclonais) em tampão TRIS com soro bovino albumina, azida (0,5%) e corante inerte			
	1 vial lioofilizados	amarelo	Adicione 2 ml de água destilada
Calibrador Zero em soro bovino com timol.			
	5 viales lioofilizados	amarelo	Adicione 0,5 ml de água destilada
Calibradores 1-5 em soro bovino com timol. (ver valores exactos nos rótulos dos recipiente)			
	1 vial 10 ml	castanho	Dilua 70 x com água destilada (use um agitador magnético).
Solução de lavagem (TRIS-HCl)			
	2 viales lioofilizados	prateado	Adicione 0,5 ml de água destilada
Controlos - N = 1 ou 2 em plasma humano com timol			

- Note:
1. Use o Calibrador Zero para diluições da Amostra.
 2. 1 ng do calibrador preparado é equivalente a 29 μIU NIBSC 3rd IS 84/500.
 3. Fator de conversão : $\text{ng/ml} \times 29 = \mu\text{UI} / \text{ml}$

VI. MATERIAL NÃO FORNECIDO

The following material is required but not provided in the kit:

1. Água destilada
2. Pipetas automáticas de: 25 μl , 200 μl , 500 μl e 2 ml (recomenda-se o uso de pipetas adequadas com pontas descartáveis)
3. Misturador vortex
4. Agitador magnético
5. Seringa automática de 5 ml (tipo Cornwall) para lavagem
6. Sistema de aspiração (opcional)
7. Qualquer contador gama com capacidade para medir ^{125}I pode ser utilizado (alcance mínimo 70%).

VII. PREPARAÇÃO DOS REAGENTES

- Calibradores :** Reconstitua o calibrador zero com 2 ml de água destilada e outros calibradores com 0,5 ml de água destilada.
- Controlos :** Reconstitua os controlos com 0,5 ml de água destilada.
- Solução de Lavagem de Trabalho:** Prepare um volume adequado de Solução de Lavagem de Trabalho ao adicionar 69 volumes de água destilada a 1 volume de solução de lavagem (70x). Use um agitador magnético para homogeneizar. Rejeite a solução de lavagem não utilizada no final do dia.

VIII. CONSERVAÇÃO E PRAZO DE VALIDADE DOS REAGENTES

- Antes de serem abertos ou reconstituídos todos os componentes do kit são estáveis até ao final do prazo de validade, indicado no rótulo, desde que mantidos entre 2-8°C.
- Após a reconstituição, calibradores e controlos são estáveis por 7 dias a 2-8°C.
- Para períodos mais longos de armazenamento, devem ser feitas alíquotas e mantidas a -20 ° C durante 3 meses. Evite ciclos de congelamento e descongelamento subseqüentes
- A Solução de Lavagem de Trabalho recentemente preparada deve ser utilizada no mesmo dia.
- Após a 1^a utilização, o marcador é estável até ao final do prazo de validade, desde que mantido no recipiente original bem fechado, entre 2 a 8°C
- As alterações na aparência física dos reagentes do kit podem indicar instabilidade ou degradação.

IX. RECOLHA E PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS

- Soro e plasma deve ser mantidos entre 2 - 8 ° C.
- Se o teste não for executado dentro de 24 horas, o armazenamento a -20 ° C é recomendado.
- Evite ciclos de congelamento e descongelamento subseqüentes.
- Não utilizar amostras lipêmicas.
- O soro ou plasma (EDTA e heparina) fornece resultados semelhantes.

$$Y (\text{hep. plasma}) = 0,90x (\text{soro}) + 0,06 \quad r = 0,98 \quad n = 19$$

$$Y (\text{plasma com EDTA}) = 0,91x (\text{soro}) + 0,46 \quad r = 0,99 \quad n = 19$$

X. PROCEDIMENTO

A. Notas de manipulação

Não utilize o kit ou os seus componentes após a expiração do prazo de validade. Não misture componentes de lotes diferentes. Antes de utilizar todos os reagentes devem estar à temp. Ambiente (18-25°C). Misture completamente os reagentes e as amostras com agitação ou rotação suaves. Para evitar contaminações cruzadas, use uma pipeta com ponta descartável para a adição de cada reagente e amostra.

As pipetas de precisão elevada ou a pipetagem automática vão aumentar a precisão. Respeite os tempos de incubação. Prepare uma curva padrão para cada análise e não utilize dados de análises anteriores.

B. Procedimento

1. Rotule os tubos revestidos em duplicado, para cada calibrador, amostra e controlo. Para a determinação de contagens totais, marque 2 tubos normais.
2. Misture por breves momentos, no misturador vortex calibradores, controlos, amostras e dispense 25 μl de cada para os tubos respectivos.
3. Dispense 200 μl de marcador Anti-PRL- ^{125}I dentro de cada tubo, incluindo os tubos não revestidos para contagens totais.
4. Agite gentilmente o tabuleiro (rack) que contém os tubos para liberar qualquer bolha de ar, presa.
5. Incube durante 2 h à temp. Ambiente (18-25°C).
6. Aspire (ou decante) o conteúdo de cada tubo (excepto as contagens totais). Certifique-se que a ponta de plástico do aspirador atinge o fundo do tubo revestido, para remoção de todo o líquido.
7. Lave os tubos com 2 ml de Solução de Lavagem de Trabalho (excepto as contagens totais). Evite a formação de espuma durante a adição de Solução de Lavagem de Trabalho
8. Aspire (ou decante) o conteúdo de cada tubo (excepto as contagens totais).
9. Deixe os tubos na posição vertical por dois minutos e aspire as gotas e o líquido residual.
10. Conte os tubos no contador gama durante 60 segundos.

XI. CÁLCULO DOS RESULTADOS

1. Calcule a média das determinações em duplicado.
2. Desenhe o c.p.m. (ordenadas para cada padrão contra a concentração correspondente de PRL (abcissas) e desenhe uma curva padrão (de calibração) através dos pontos padrão e rejeite os pontos marginais (outliers) óbvios.
3. Leia a concentração para cada controlo e amostra por interpolação na curva de calibração.
4. A redução dos dados através de computador simplificará estes cálculos. Se o processamento dos resultados for automático, é recomendado um ajustamento de curvas de função logística de 4 parâmetros.

XII. DADOS TÍPICOS

Os dados seguintes servem apenas como exemplo e nunca devem ser utilizados em vez da curva de calibração executada em tempo real.

PRL-IRMA		cpm	B/T (%)
Contagem Total		144108	100
Calibrador	0,0 ng/ml 2,88 ng/ml 8,41 ng/ml 25,50 ng/ml 87,20 ng/ml 205,00 ng/ml	254 1544 3913 9828 24551 41925	0,18 0,90 2,54 6,64 16,86 28,92

XIII. DESEMPENHO E LIMITAÇÕES

A. Limite da detecção

O LoB (Limit of Blank) foi calculado medindo o branco várias vezes e foi calculado como a média + 2 desvio padrão da distribuição dos valores de teste; o LoB foi calculado em 0,18 ng / ml.

O LoD (Limite de Detecção) foi calculado como o desvio padrão LoB + 1.645 de uma amostra de baixa concentração testada em 9 corridas diferentes. O LoD foi calculado em 0,76 ng / ml.

O LoQ (Limite de Quantificação) foi calculado testando 5 amostras de valores baixos, 9 vezes. O LoQ foi calculado em 1,26 ng / ml.

B. Especificidade

Hormônios de reatividade cruzada foram adicionados a um baixo e um alto valor do calibrador de PRL. A resposta aparente PRL foi medida.

Hormônio adicionado	Amostra 1 ng/ml	Amostra 2 ng/ml
-	16,8	57,1
LH 750 mIU/ml	18,0	55,0
hCG 500000 mIU/ml	18,8	56,1
-	16,9	51,9
FSH 500 mIU/ml	17,4	58,8
-	17,0	54,4
hPL 100000 ng/ml	18,0	56,4
-	18,0	56,5
hGH 125 ng/ml	18,3	57,1
-	16,9	52,2
TSH 740 mIU/ml	17,8	54,8

O DIAsource PRL-IRMA mede PRL total, o que significa que tanto o monômero prolactina activo e a macroprolactina biologicamente inactiva são dosados (ver referências 10 e 11).

Para pacientes que apresentam um nível de PRL elevada com este kit, informações adicionais devem ser obtidas, a fim de estabelecer um diagnóstico correto.

Os efeitos potencialmente interferentes da hemoglobina a 500 mg / dl e da bilirrubina a 100 mg / dl foram avaliados. Os resultados deste teste não demonstram nenhuma interferência significativa, como mostrado na tabela abaixo. No entanto, uma interferência com triglicerídeos foi observada a partir de uma concentração de 62,5 mg / dl, como mostrado na tabela abaixo. Portanto, amostras lipêmicas devem ser evitadas.

Substância interferente	Plasma 1 (ng/ml)	Plasma 2 (ng/ml)	Sérum 1 (ng/ml)
-	17,8	56,6	13,2
Hemoglobina	18,2	57,1	13,4
-	18,7	54,8	14,0
Bilirrubina	18,0	57,5	13,8
-	19,3	64,1	13,1
Triglicerídeos	16,7	47,6	11,3

C. Precisão

INTRA-ENSAIO

Amostra	N	$\bar{X} \pm D.P.$ (ng/ml)	CV (%)	Amostra	N	$\bar{X} \pm D.P.$ (ng/ml)	CV (%)
A	10	19,4 ± 0,5	2,6	A	15	20,3 ± 0,7	3,5
B	10	63,1 ± 1,5	2,4	B	15	63,6 ± 2,4	3,7

D. Exactidão

TESTE DE RECUPERAÇÃO

Amostra	PRL Adicionado (ng/ml)	PRL Recuperado (ng/ml)	Recuperação (%)
1	63 78,1 104,7 112,7	59,7 80,7 102,4 117,3	94,7 103,3 97,7 104,1
2	63 78,1 104,7 112,7	58,0 75,7 101,3 112,1	92,0 96,9 96,7 99,5

TESTE DE DILUIÇÃO

Amostra	Diluição	Conc. teórico. (ng/ml)	Conc. medida (ng/ml)
1	1/1 1/2 1/4 1/8	- 75,7 37,9 18,9	151,5 81,6 38,5 16,7
2	1/1 1/2 1/4 1/8 1/16	- 91,7 45,8 22,9 11,5	183,4 104,1 47,9 22,4 10,1

As amostras foram diluídas com Calibrador Zero.

E. Atraso de tempo

Conforme demonstrado a seguir, os resultados das análises continuam precisos, mesmo quando é dispensada uma amostra até 60 minutos depois da adição do calibrador aos tubos revestidos.

ATRASO DE TEMPO

	0' (ng/ml)	15' (ng/ml)	30' (ng/ml)	60' (ng/ml)
Amostra 1	19,5	20,2	21,3	20,4
Amostra 2	67,4	65,2	64,3	63,4

F. Efeito "Hook"

Uma amostra de soro com uma concentração de 16000 ng/ml de PRL proporciona um sinal acima da concentração mais elevada do calibrador.

Faixa de medição: 1,26 (LoQ) a 16000 ng / ml (efeito Hook)

XIV. LIMITAÇÕES

- Amostras de pacientes que receberam preparações de anticorpos monoclonais de camundongos para diagnóstico ou terapia podem conter anticorpos humanos anti-camundongos (HAMA). Essas amostras podem apresentar tanto valores falsamente elevados ou diminuídos quando testado com kits de teste que utilizam anticorpos monoclonais de camundongos.
- Anticorpos heterofílicos no soro humano podem reagir com o reagente de imunoglobulinas, interferindo com os imunoensaios. Os pacientes rotineiramente expostos a animais ou produtos de soro animal podem estar propensos a esse tipo de interferência e valores anômalos podem ser observados no caso da presença de anticorpos heterofílicos. Avaliar cuidadosamente os resultados de pacientes com suspeita de ter esses anticorpos.

Se os resultados não forem consistentes com outras observações clínicas, informação adicional deve ser exigida antes do diagnóstico.

XV. CONTROLO DE QUALIDADE INTERNO

- Se os resultados obtidos para o Controlo 1 e/ou 2 não se situarem dentro do intervalo especificado no rótulo do recipiente, os resultados não podem ser usados, sem que haja uma explicação satisfatória para a discrepância verificada.
- Se tal for desejável, cada laboratório pode fazer os seus pools de amostras de controlo, que devem ser mantidas na forma de alíquotas congeladas.
- Os critérios de aceitação para a diferença entre os resultados duplos das amostras devem basear-se nas Boas Práticas Laboratoriais.

XVI. INTERVALOS DE REFERÊNCIA

Estes valores são dados apenas a título de referência. Cada laboratório deverá estabelecer o seu próprio intervalo normal de valores.

Concentrações de PRL foram medidas em amostras de soro obtidas de diferentes categorias de indivíduos saudáveis.

Identificação	Nº de indivíduos	Média (ng/ml)	Intervalo (percentis 2,5-97,5) (ng/ml)
Machos	40	8,5	3,0 – 18,8
Mulheres (18 a 60 anos)	31	9,2	3,0 – 16,5
Mulheres (> 60 anos)	37	7,2	3,8 – 18,1

XVII. AVISOS E PRECAUÇÕES

Segurança

Para utilização em diagnóstico *in vitro*.

Este kit contém ^{125}I (meia-vida: 60 dias), emitindo radiações X (28 keV) e γ (35,5 keV) ionizantes.

Este produto radioactivo pode ser transferido para e utilizado apenas por pessoas autorizadas; a aquisição, conservação, uso e troca de produtos radioactivos está sujeita a legislação nacional. Em caso algum este produto poderá ser administrado a seres humanos ou a animais.

Toda a manipulação de material radioactivo deve ser executado em área própria longe de locais de passagem. Deve ser mantido no laboratório um livro de notas (log book) para a recepção e conservação dos materiais radioactivos. O equipamento de laboratório contaminado e as substâncias perigosas devem ser eliminadas e separadas para evitar contaminação por diferentes isótopos.

Quaisquer derrames de material radioactivo devem ser imediatamente limpos de acordo com os procedimentos de rádio-segurança. O lixo radioactivo deve ser descartado de acordo com a legislação local e com as directrizes vigentes. A adesão às regras básicas de segurança com material radioactivo confere a protecção adequada.

O material de origem humana utilizado na preparação do reagente foi testado e considerado não reactivo ao antigénio de superfície da Hepatite B (HBs Ag), aos anticorpos do vírus da Hepatite C (HCV) e aos anticorpos do vírus da Imunodeficiência humana (HIV-1 e HIV-2). Dado que nenhum método de ensaio conhecido pode oferecer a segurança completa da ausência de agentes infecciosos, manusear os reagentes e as amostras dos doentes como potencialmente infecciosos.

Todos os produtos animais e derivados foram recolhidos a partir de animais saudáveis. Os componentes bovinos são oriundos de países onde não foram notificados casos de BSE. No entanto os componentes com substâncias animais devem ser tratados como potencialmente infecciosos.

A azida sódica pode reagir com as canalizações de chumbo ou cobre formando azidas metálicas altamente explosivas. Portanto, deixar fluir água em abundância nos tubos durante a eliminação de líquidos para prevenir a acumulação de azidas². Evitar contacto com a pele, olhos e mucosas (azida sódica como conservante). Não fume, beba, coma ou aplique cosméticos na área de trabalho. Não pipete pela boca. Use vestuário de protecção e luvas descartáveis.

XVIII. BIBLIOGRAFIA

1. Archer D.F. (1977). **Current concepts of prolactin physiology in normal and abnormal conditions.** Fertil Steril 28:125.
2. Laufer N., Botero-Ruiz W., De Chemey A.H., et al. (1984). **Gonadotropin and prolactin levels in follicular fluid of human ova successfully fertilized in vitro.** J. Clin. Endocrinol. Metab. 58:430.
3. Leong D.A., Frawley L.S., Neil J.D. (1983). **Neuroendocrine control of prolactin secretion.** An. Rev. of Physiol. 45:109.
4. Seppala M. (1978). **Prolactin and female reproduction.** An. Clin. Res. 10:164.
5. Taylor T.J., Trouson A, Besanko M., Burger H.G., Stockdale J. (1986). **Plasma progesterone and prolactin changes in superovulated women before, during and immediately after laparoscopy for in vitro fertilisation and their relation to pregnancy** Fertil. Steril 45:680.
6. Tyson J.E. (1980) **Changing role of placental lactogen and prolactin in human gestation.** Clin. Obstet.Gynecol 23:737.
7. Kamel M.A et al (1994) **Comparison between prolactin, gonadotropins and steroid hormones in serum and follicular fluid after stimulation with gonadotrophin-releasing hormone agonist and human menopausal gonadotrophin for an in-vitro fertilization program.** Hum. Reprod. 9(10):1803-6.
8. Patel D.D. et al (1994). **Plasma prolactin in patients with colorectal cancer. Value in follow-up and as a prognosticator** Cancer 73(3):570-74.
9. Hattori et al (1994). **Effects of anti-prolactin autoantibodies on serum prolactin measurements.** Eur. J. Endocrinol. 130(5):434-7.
10. Suh H.K. et al (1974). **Size heterogeneity of human Prolactin in plasma and pituitary extracts.** J. Clin. Endocrinol Metab 39 : 928-935.
11. Bonhoff A. et al (1995) **Identification of macroprolactin in a patient with asymptomatic hyperprolactinemia as a stable PRL-IgG complex.** Exp. Clin. Endocrinol. 103 : 252-5

XIX. RESUMO DO PROTOCOLO

	CONTAGENS TOTAIS ml	CALIBRA-DORES ml	AMOSTRA(S)/ CONTROLOS ml
Calibradores (0-5) Amostras, Controlos Marcador	- 0,200	0,025 0,200	- 0,025 0,200
Incubação			2 h à temp. ambiente (18-25°C)
Separação Solução de lavagem Separação	- - -	Aspire (ou decante) 2 ml Aspire (ou decante)	
Contagem			Conte os tubos durante 60 seg

Διαβάστε ολόκληρο το πρωτόκολλο πριν από τη χρήση.

PRL-IRMA

I. ΧΡΗΣΗ ΓΙΑ ΤΗΝ ΟΠΟΙΑ ΠΡΟΟΡΙΖΕΤΑΙ

Κιτ ανοσοραδιομετρικού προσδιορισμού για την *in vitro* ποσοτική μέτρηση της ανθρώπινης προλακτίνης (RPL) στον ορό και το πλάσμα.

II. ΓΕΝΙΚΕΣ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΕΣ

A. Εμπορική ονομασία: Κιτ PRL-IRMA της DIAsource

B. Αριθμός καταλόγου: KIP1441: 96 προσδιορισμοί

C. Κατασκευάζεται από την: DIAsource ImmunoAssays S.A.
Rue du Bosquet, 2, B-1348 Louvain-la-Neuve, Belgium.

Για τεχνική βοήθεια ή πληροφορίες σχετικά με παραγγελίες επικοινωνήστε στα:

Τηλ.: +32 (0)10 84.99.11

Fax: +32 (0)10 84.99.91

III. ΚΛΙΝΙΚΟ ΥΠΟΒΑΘΡΟ

A. Βιολογική δράση

Η προλακτίνη (PRL) είναι μια πολυπεπτιδική ορμόνη (μοριακό βάρος 20.000 Da) που εκκρίνεται από την υπόφυση, η οποία παίζει ουσιαστικό ρόλο στην ανάπτυξη του μαστικού αδένα, την παραγωγή και την έκκριση γάλακτος και των έλεγχο των γοναδικών λειτουργιών του άρρενος και του θήλεος. Η έκκριση της προλακτίνης είναι υπό υποθαλαμικό έλεγχο που ασκείται απευθείας από την ντοπαμίνη, αρκετούς παράγοντες απελευθέρωσης προλακτίνης (PRF) και ίσως VIP (αγγειοδραστικό εντερικό πολυπεπτίδιο) ή ένα πολύ σχετικό πεπτίδιο. Η TRH (Ορμόνη απελευθέρωσης θυροτροπίνης) επίσης δρα άμεσα σε επίπεδο υπόφυσης για να διεγείρει την απελευθέρωση της προλακτίνης, αλλά ο φυσιολογικός της ρόλος στον έλεγχο της έκκρισης προλακτίνης δεν έχει αποδειχθεί ακόμη. Αρκετοί νευροενδοκρινικοί παράγοντες, που περιλαμβάνουν τις σεροτονινεργικές ή νοραδρενεργικές οδούς ενέχονται επίσης στον έλεγχο έκκρισης της προλακτίνης. Η συγκέντρωση της προλακτίνης στο πλάσμα αυξάνεται σε διάφορες φυσιολογικές καταστάσεις όπως το στρες, η κύηση και η γαλουχία. Τα φυσιολογικά επίπεδα παρουσιάζουν διακυμάνσεις με βάση ένα νυχθημερή ρυθμό, ενώ μια σημαντική αύξηση παρατηρείται τη νύχτα. Ουσίες με αντι-ντοπαμινική δράση (ψυχοτρόποι παράγοντες) και καταστολείς της ωθυλακιορρηξίας αυξάνουν την έκκριση της προλακτίνης.

B. Κλινική εφαρμογή

- Προλακτίνωμα: Τα επίπεδα της κυκλοφορούσας προλακτίνης αυξάνονται σε ασθενείς με αδένωμα της υπόφυσης που εκκρίνει προλακτίνη. Η αμηνόρροια και η ανικανότητα αποτελούν χαρακτηριστικά κλινικά συμπτώματα σε τέτοιες περιπτώσεις.
- Άλλες παθήσεις της υπόφυσης: Αυξημένα επίπεδα προλακτίνης παρατηρούνται επίσης σε 5% έως 20% των ασθενών με ακρομεγαλία και όταν καταστέλλεται ο έλεγχος της υπόφυσης από τον υποθάλαμο (τμήμα του μίσχου της υπόφυσης). Μειωμένα επίπεδα PRL ενδέχεται να παρατηρηθούν σε περιπτώσεις πλήρους καταστροφής της υπόφυσης όπως στο σύνδρομο Sheehan.
- Γαλακτόρροια και αμηνόρροια: Η μέτρηση των επιπέδων της προλακτίνης στον ορό αποτελεί χρήσιμη εξέταση για τη διαφορική διάγνωση γαλακτόρροιας και αμηνόρροιας.

IV. ΒΑΣΙΚΕΣ ΑΡΧΕΣ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Η εξέταση PRL-Irma της DiaSource είναι ένας ανοσοραδιομετρικός προσδιορισμός που βασίζεται σε διαχωρισμό επιστρωμένων σωληναρίων. Τα Mabs1, τα αντισώματα σύλληψης, προσκολλώνται στην κάτω και εσωτερική επιφάνεια του πλαστικού σωληναρίου. Οι βαθμονομητές ή τα δείγματα που προστίθενται στα σωληνάρια εμφανίζουν κατ' αρχήν χαμηλή συγγένεια προς τα Mabs1. Προσθήκη Mab2, τον αντισώματος σηματοδότησης που είναι σημασμένο με ^{125}I , θα ολοκληρώσει το σύστημα και θα πυροδοτήσει την ανοσολογική αντίδραση. Μετά την πλύση, η υπολειτόμενη ραδιενέργεια, που είναι δεσμευμένη στο σωληνάριο, αντανακλά τη συγκέντρωση του αντιγόνου. Η χρήση αρκετών διακριτών Mabs εμποδίζει την υπερειδικότητα.

V. ΠΑΡΕΧΟΜΕΝΑ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

Αντιδραστήρια	Ποσότητα 96 προσδιορι σμοί	Χρωματι κός κωδικός	Ανασύσταση
Σωληνάρια επιστρωμένα με anti PRL (μονοκλωνικά αντισώματα)	2 x 48	πορτοκαλί	Έτοιμο για χρήση
Αντi-PRL (μονοκλωνικά αντισώματα) σηματοδότηση με ^{125}I σε ρυθμιστικό διάλυμα TRIS με βάσεια ορολευκωματίνη, αζίδιο του νατρίου (0,5%), EDTA και αδρανής κόκκινης χρωστικής	1 φιαλίδιο 22 ml 340 kBq	κόκκινο	Έτοιμο για χρήση
Μηδενικός βαθμονομητής σε βάσειο ορό με θυμόλη	1 φιαλίδιο λυσιφιλ.	κίτρινο	Προσθέστε 2 ml απεσταγμένου νερού
Βαθμονομητές 1-5 σε βάσειο ορό με θυμόλη (δείτε ακριβείς τιμές πάνω στις επικέτες των φιαλιδίων)	5 φιαλίδια λυσιφιλ.	κίτρινο	Προσθέστε 0,5 ml απεσταγμένου νερού
Διάλυμα πλύσης (TRIS-HCl)	1 φιαλίδιο 10 ml	καφέ	Αραιώστε 70 x με απεσταγμένο νερό (χρησιμοποιήστε μαγνητικό αναδευτήρα).
Οροί ελέγχου 1 και 2 σε ανθρόπινο πλάσμα με θυμόλη	2 φιαλίδια λυσιφιλ.	ασημί	Προσθέστε 0,5 ml απεσταγμένου νερού

Σημείωση: 1. Χρησιμοποιείτε το μηδενικό βαθμονομητή για αραιώσεις ορών.
 2. 1 ng του παρασκευάσματος βαθμονομητή είναι ισοδύναμο με 29 mIU NBSC 3rd IS 84/500.
 3. Συντελεστής μετατροπής: ng/ml x 29 = $\mu\text{U}/\text{ml}$

VI. ΑΝΑΛΩΣΙΜΑ ΠΟΥ ΔΕΝ ΠΑΡΕΧΟΝΤΑΙ

Τα ακόλουθα υλικά απαιτούνται αλλά δεν παρέχονται στο κιτ:

- Απεσταγμένο νερό
- Πιπέτες για διανομή: 25 μl, 200 μl, 500 μl και 2 ml (συνιστάται η χρήση πιπετών ακριβείας με αναλώσιμα πλαστικά ρύγχη).
- Αναμείκτης στροβιλισμού (τύπου vortex)
- Μαγνητικός αναδευτήρας
- Αυτόματη σύριγγα των 5 ml (τύπου Cornwall) για πλύση
- Σύστημα αναρρόφησης (προαρετικό).
- Μπορεί να χρησιμοποιηθεί οποιοσδήποτε μετρητής για ακτινοβολίας με δυνατότητα μέτρησης της ^{125}I (ελάχιστη απόδοση 70%).

VII. ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΟΥ

- A. **Βαθμονομητές:** Ανασυστήστε το μηδενικό βαθμονομητή με 2 ml απεσταγμένου νερού και άλλους βαθμονομητές με 0,5 ml απεσταγμένου νερού.

- B. **Οροί ελέγχου:** Ανασυστήστε τους ορούς ελέγχου με 0,5 ml απεσταγμένου νερού.

- C. **Διάλυμα πλύσης εργασίας:** Προετοιμάστε επαρκή όγκο διαλύματος πλύσης εργασίας με προσθήκη 69 όγκων απεσταγμένου νερού σε 1 όγκο διαλύματος πλύσης (70x). Χρησιμοποιήστε μαγνητικό αναδευτήρα για την ομογενοποίηση. Απορρίψτε το μη χρησιμοποιημένο διάλυμα πλύσης εργασίας στο τέλος της ημέρας.

VIII. ΦΥΛΑΞΗ ΚΑΙ ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΛΗΞΗΣ ΤΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

- Πριν από το άνοιγμα ή την ανασύσταση, όλα τα συστατικά του κιτ παραμένουν σταθερά έως την ημερομηνία λήξης, η οποία αναγράφεται στην ετικέτα, εφόσον διατηρούνται σε θερμοκρασία 2 έως 8°C.
- Μετά την ανασύσταση, οι βαθμονομητές και οι οροί ελέγχου παραμένουν σταθεροί επί 7 ημέρες στους 2-8°C.
- Για μεγαλύτερες περιόδους φύλαξης, θα πρέπει να δημιουργηθούν κλάσματα/δόσεις μιας χρήσης και να διατηρηθούν σε θερμοκρασία -20°C επί 3 μήνες. Αποφεύγετε τους επακόλουθους κύκλους κατάψυξης-απόψυξης.
- Φρέσκο, παρασκευασμένο διάλυμα πλύσης εργασίας θα πρέπει να χρησιμοποιείται την ίδια ημέρα.
- Μετά την πρώτη χρήση του, ο ιχνηθέτης παραμένει σταθερός έως την ημερομηνία λήξης, εφόσον διατηρείται στο αρχικό, ερμηνευτικό κλειστό φιαλίδιο σε θερμοκρασία 2 έως 8°C.
- Τυχόν μεταβολές της φυσικής εμφάνισης των αντιδραστηρίων του κιτ ενδέχεται να υποδηλώνουν αστάθεια ή άλλοι οιστροί.

IX. ΣΥΛΛΟΓΗ ΚΑΙ ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ

- Ο ορός και το πλάσμα πρέπει να φυλάσσονται σε θερμοκρασία 2-8°C.
- Εάν η εξέταση δεν πραγματοποιείται εντός 24 ωρών, συνιστάται η φύλαξη στους -20°C.
- Αποφεύγετε τους επακόλουθους κύκλους κατάψυξης-απόψυξης.
- Μην χρησιμοποιείτε λιπαριδικά δείγματα.
- Ο ορός ή το πλάσμα (EDTA και ηπαρίνη) παρέχονται παρόμοια αποτελέσματα.

$$Y \text{ (παρ. πλάσμα)} = 0,90 \times (\text{ορός}) + 0,06 \quad r = 0,98 \quad n = 19$$

$$Y \text{ (πλάσμα με EDTA)} = 0,91 \times (\text{ορός}) + 0,46 \quad r = 0,99 \quad n = 19$$

X. ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

A. Σημειώσεις σχετικά με το χειρισμό

Μη χρησιμοποιείτε το κιτ ή τα συστατικά μετά την ημερομηνία λήξης. Μην αναμειγνύετε υλικά από διαφορετικές παρτίδες κιτ. Φέρετε όλα τα αντιδραστήρια σε θερμοκρασία δωματίου (18-25°C) πριν από τη χρήση. Αναμείξτε καλά όλα τα αντιδραστήρια και τα δείγματα με απαλή ανακίνηση ή ανάδευτη. Χρησιμοποιείτε ένα καθαρό αναλώσιμο ρύγχος πιπέτας για την προσθήκη κάθε διαφορετικού αντιδραστηρίου και δείγματος προκειμένου να αποφύγετε την επιμόλυνση. Η ακρίβεια βελτιώνεται με χρήση πιπέτων υψηλής ακρίβειας ή αυτοματοποιημένου εξοπλισμού διανομής με πιπέτες. Τηρείτε τους χρόνους επώασης. Προετοιμάστε μια καμπύλη βαθμονόμησης για κάθε ανάλυση και μη χρησιμοποιείτε δεδομένα από προηγούμενες αναλύσεις.

B. Διαδικασία

- Σημάνετε επιστρωμένα σωληνάρια εις διπλούν για κάθε βαθμονομητή, ορό ελέγχου και δείγμα. Για τον προσδιορισμό των μετρήσεων του ιχνηθέτη ^{125}I ("total"), σημάνετε 2 κοινά (μη επιστρωμένα) σωληνάρια.
- Αναμείξτε για λίγο (με αναμείκτη στροβιλισμού τύπου vortex) βαθμονομητές, δείγματα και ορούς ελέγχου και διανείμετε 25 μl από έκαστο στα αντίστοιχα σωληνάρια.
- Διανείμετε 200 μl ιχνηθέτη αντi-PRL- ^{125}I σε κάθε σωληνάριο, συμπεριλαμβάνοντας τα μη επιστρωμένα σωληνάρια για τις μετρήσεις του ιχνηθέτη ^{125}I ("total").
- Ανακινήστε απαλά με το χέρι τη βάση στήριξης των σωληναρίων για να απελευθερώσετε τυχόν παγιδευμένες φυσαλίδες αέρα.
- Επωάστε επί 2 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου (18-25°C).
- Αναρροφήστε (ή μεταγγίστε) το πειρεχόμενο κάθε σωληναρίου (με εξαίρεση εκείνα που αφορούν τις μετρήσεις του ιχνηθέτη ^{125}I ("total")). Βεβαιωθείτε ότι το πλαστικό ρύγχος των αναρροφητή φθάνει στον πυθμένα του επιστρωμένου σωληναρίου προκειμένου να αφαιρεθεί όλη η ποσότητα του υγρού.
- Πλύνετε τα σωληνάρια με 2 ml διαλύματος πλύσης εργασίας (με εξαίρεση εκείνα που αφορούν τις μετρήσεις του ιχνηθέτη ^{125}I ("total")).
- Αποφύγετε την παρασκευή αντιδραστηρίου (ή μεταγγίστε) το πειρεχόμενο κάθε σωληναρίου (με εξαίρεση εκείνα που αφορούν τις μετρήσεις του ιχνηθέτη ^{125}I ("total")).

9. Αφήστε τα σωληνάρια να σταθούν σε όρθια θέση για δύο λεπτά και αναρροφήστε τη σταγόνα υγρού που απομένει.
 10. Μετρήστε τα σωληνάρια σε μετρητή γ ακτινοβολίας για 60 δευτερόλεπτα.

XI. ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

- Υπολογίστε τη μέση τιμή των διπλών προσδιορισμών.
- Παραστήστε γραφικά τις c.p.m. (κρούσεις ανά λεπτό) (τεταγμένη) για κάθε βαθμονομητή έναντι της αντίστοιχης συγκέντρωσης της PRL (τεταγμένη) και σχεδιάστε μια καμπύλη βαθμονόμησης μέσω των σημείων του βαθμονομητή, απορρίψτε τις εμφανείς μη αποδεκτές τιμές.
- Διαβάστε τη συγκέντρωση για κάθε ορό ελέγχου και δείγμα με αναγωγή στην καμπύλη βαθμονόμησης.
- Αναγωγή δεδομένων με τη βοήθεια ηλεκτρονικού υπολογιστή θα απλοποιήσει αυτούς τους υπολογισμούς. Εάν χρησιμοποιείται αυτόματη επεξεργασία αποτελεσμάτων, συνιστάται προσαρμογή καμπύλης λογιστικής συνάρτησης 4 παραμέτρων.

XII. ΤΥΠΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ

Τα ακόλουθα δεδομένα προορίζονται μόνο ως παράδειγμα και δεν πρέπει να χρησιμοποιούνται ποτέ αντί της καμπύλης βαθμονόμησης πραγματικού χρόνου.

PRL-IRMA		cpm	B/T (%)
Κρούσεις του ιχνηθέτη ^{125}I ("total")		144108	100
Βαθμονομητής			
0,0 ng/ml	254	0,18	
2,88 ng/ml	1544	0,90	
8,41 ng/ml	3913	2,54	
25,50 ng/ml	9828	6,64	
87,20 ng/ml	24551	16,86	
205,00 ng/ml	41925	28,92	

XIII. ΑΠΟΔΟΣΗ ΚΑΙ ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ

A. Όριο ανίχνευσης

To LoB (Limit of Blank) υπολογίστηκε μετρώντας το κενό αρκετές φορές και υπολογίστηκε ως η μέση + 2 τυπική απόκλιση της κατανομής των τιμών δοκιμής. To LoB υπολογίστηκε να είναι 0,18 ng / ml.

To LoD (Όριο ανίχνευσης) υπολογίστηκε ως η τυπική απόκλιση LoB + 1,645 ενός δείγματος χαμηλής συγκέντρωσης που δοκιμάστηκε σε 9 διαφορετικές δοκιμές. To LoD υπολογίστηκε να είναι 0,76 ng / ml.

To LoQ (Όριο ποσοτικούτης) υπολογίστηκε δοκιμάζοντας 5 δείγματα χαμηλών τιμών, 9 φορές. To LoQ υπολογίστηκε να είναι 1,26 ng / ml.

B. Ειδικότητα

Ορμόνες διασταυρούμενης αντιδραστικότητας προστέθηκαν σε ένα βαθμονομητή χαμηλής και υψηλής τιμής PRL. Μετρήθηκε η φαινομενική απόκριση της PRL.

Προστεθείσα ορμόνη	Δείγμα 1 ng/ml	Δείγμα 2 ng/ml
-	16,8	57,1
LH 750 mIU/ml	18,0	55,0
hCG 500000 mIU/ml	18,8	56,1
-	16,9	51,9
FSH 500 mIU/ml	17,4	58,8
-	17,0	54,4
hPL 100000 ng/ml	18,0	56,4
-	18,0	56,5
hGH 125 ng/ml	18,3	57,1
-	16,9	52,2
TSH 740 mIU/ml	17,8	54,8

To DIAsource PRL-IRMA μετρά την ολική PRL, δηλαδή τόσο το ενεργό μονομερές της προλακτίνης, όσο και τη βιολογικά ανενεργή μακροπρολακτίνη (βλ. βιβλιογραφικές αναφορές 10 και 11).

Για ασθενείς που εμφανίζουν αυξημένο επίπεδο PRL με αυτό το κιτ, θα πρέπει να ληφθούν πρόσθετες πληροφορίες για τη σωστή διάγνωση.

Έχουν αξιολογηθεί τα δυνητικά παρεμβατικά αποτελέσματα της αιμοσφαιρίνης στα 500 mg / dl και της χολερυθρίνης στα 100 mg / dl. Τα αποτελέσματα αυτής της δοκιμής δεν καταδεικνύουν σημαντική παρεμβολή όπως φαίνεται στον παρακάτω πίνακα.

Οστόσο, έχει παρατηρηθεί παρεμβολή στα τριγλυκερίδια από συγκέντρωση 62,5 mg / dl όπως φαίνεται στον παρακάτω πίνακα. Επομένως, τα λιπαρικά δείγματα πρέπει να αποφεύγονται.

Παρεμβατική ουσία	Πλάσμα αίματος 1 (ng/ml)	Πλάσμα αίματος2 (ng/ml)	ορρός1 (ng/ml)
-	17,8	56,6	13,2
αιμοσφαιρίνη	18,2	57,1	13,4
-	18,7	54,8	14,0
χολερυθρίνη	18,0	57,5	13,8
-	19,3	64,1	13,1
Τριγλυκερίδια	16,7	47,6	11,3

Γ. Ακρίβεια

ΠΙΑ ΤΟΝ ΙΔΙΟ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟ

ΜΕΤΑΞΥ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΩΝ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΩΝ

Δείγμα	N	$\langle X \rangle \pm T.A.$ (ng/ml)	Σ.Δ. (%)	Δείγμα	N	$\langle X \rangle \pm T.A.$ (ng/ml)	Σ.Δ. (%)
A	10	19,4 ± 0,5	2,6	A	15	20,3 ± 0,7	3,5
B	10	63,1 ± 1,5	2,4	B	15	63,6 ± 2,4	3,7

Δ. Ορθότητα

ΔΟΚΙΜΑΣΙΑ ΑΝΑΚΤΗΣΗΣ

Δείγμα	Προστεθείσα PRL (ng/ml)	Ανακτηθείσα PRL (ng/ml)	Ανάκτηση (%)
1	63 78,1 104,7 112,7	59,7 80,7 102,4 117,3	94,7 103,3 97,7 104,1
2	63 78,1 104,7 112,7	58,0 75,7 101,3 112,1	92,0 96,9 96,7 99,5

ΔΟΚΙΜΑΣΙΑ ΑΡΑΙΩΣΗΣ

Δείγμα	Αραίωση	Θεωρητική συγκέντρωση (ng/ml)	Μετρηθείσα συγκέντρωση (ng/ml)
1	1/1 1/2 1/4 1/8	- 75,7 37,9 18,9	151,5 81,6 38,5 16,7
2	1/1 1/2 1/4 1/8 1/16	- 91,7 45,8 22,9 11,5	183,4 104,1 47,9 22,4 10,1

Τα δείγματα αραίωθηκαν με μηδενικό βαθμονομητή.

E. Μεσοδιάστημα

Όπως φαίνεται στη συνέχεια, τα αποτελέσματα του προσδιορισμού παραμένουν αξιόπιστα ακόμα και όταν διανέμεται ένα δείγμα 60 λεπτά μετά την προσθήκη του βαθμονομητή στα επιστρωμένα σωληνάρια.

ΜΕΣΟΔΙΑΣΤΗΜΑ

	0' (ng/ml)	15' (ng/ml)	30' (ng/ml)	60' (ng/ml)
Δείγμα 1	19,5	20,2	21,3	20,4
Δείγμα 2	67,4	65,2	64,3	63,4

ΣΤ. Φαινόμενο αγκίστρου (hook)

Δείγμα ορού με συγκέντρωση PRL 16000 ng/ml δίνει σήμα πάνω από την υψηλότερη συγκέντρωση του βαθμονομητή.

Εύρος μέτρησης: 1,26 (LoQ) έως 16000 ng / ml (Φαινόμενο αγκίστρου)

XIV. ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ

- Δείγματα από ασθενείς που έχουν λάβει παρασκευάσματα μονοκλωνικών αντισωμάτων ποντικού για σκοπούς διάγνωσης ή θεραπείας, ενδεχομένως να περιέχουν ανθρώπινα αντισώματα αντί-ποντικού (HAMA). Σε αυτά τα δείγματα μπορούν να παρατηρηθούν ψευδώς αυξημένες ή ψευδώς μειωμένες τιμές, όταν ελέγχονται με κιτ προσδιορισμού που χρησιμοποιούν μονοκλωνικά αντισώματα ποντικού.
- Τα ετεροφιλικά αντισώματα στον ανθρώπινο ορό μπορούν να αντιδράσουν με ανοσοσφαρίνες των αντιδραστηρίων, προκαλώντας παρεμβολή σε *in vitro* ανοσοπροσδιορισμούς.
Ασθενείς που εκτίθενται τακτικά σε ζώα ή προϊόντα ζωικού ορού ενδεχομένως να είναι επιρρεπείς σε αυτήν την παρεμβολή. Παθολογικές τιμές μπορούν να παρατηρηθούν σε παρουσία ετεροφιλικών αντισωμάτων. Αξιολογείτε με προσοχή τα αποτελέσματα ασθενών, στους οποίους υπάρχει υποψία αυτών των αντισωμάτων.
Εάν τα αποτελέσματα δεν είναι σύμφωνα με άλλες κλινικές παρατηρήσεις, θα χρειαστεί η λήψη περαιτέρω πληροφοριών πριν από τη θέση της διάγνωσης.

XV. ΕΣΩΤΕΡΙΚΟΣ ΠΟΙΟΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ

- Εάν τα αποτελέσματα που λαμβάνονται για τον ορό ελέγχου 1 ή/και τον ορό ελέγχου 2 δε βρίσκονται εντός των πεδίων τιμών που καθορίζεται στην ετικέτα του φιαλίδιου, τα αποτελέσματα δεν είναι δυνατό να χρησιμοποιηθούν, εκτός εάν έχει ικανοποιητική εξήγηση για την ασυμφωνία.
- Εάν είναι επιθυμητό, κάθε εργαστήριο μπορεί να δημιουργήσει τα δικά του μείγματα δειγμάτων ελέγχου (pools), τα οποία πρέπει να διατηρούνται κατεψυγμένα σε κλάσματα/δόσεις μιας χρήσης.
- Τα κριτήρια αποδοχής για τη διαφορά μεταξύ των διπλών αποτελεσμάτων των δειγμάτων θα πρέπει να βασίζονται σε ορθές εργαστηριακές πρακτικές.

XVI. ΤΙΜΕΣ ΑΝΑΦΟΡΑΣ

Οι τιμές παρέχονται πιο κάτω μόνον ως οδηγός. Κάθε εργαστήριο θα πρέπει να καθιερώσει το δικό του πεδίο φυσιολογικών τιμών.

Οι συγκεντρώσεις της PRL μετρήθηκαν σε δείγματα ορού που ελήφθησαν από διαφορετικές κατηγορίες υγιών υποκειμένων.

Ταυτοποίηση	Αριθμός ατόμων	Μέση τιμή (ng/ml)	Εύρος (2,5-97,5 εκατοστημάτων) (ng/ml)
Αρσενικά Γυναίκες (18-60 ετών)	40	8,5	3,0 – 18,8
Γυναίκες (> 60 ετών)	31	9,2	3,0 – 16,5
	37	7,2	3,8 – 18,1

XVII. ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ ΚΑΙ ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΕΙΣ

Ασφάλεια

Μόνο για διαγνωστική χρήση *in vitro*.

Το κιτ αυτό περιέχει το ^{125}I (Χρόνος ημιζωής: 60 ημέρες), μια ραδιενεργή ουσία η οποία εκπέμπει ιονίζουσα ακτινοβολία X (28 keV) και γ (35,5 keV).

Αυτό το ραδιενεργό προϊόν είναι δυνατό να μεταφερθεί και να χρησιμοποιηθεί μόνο από εξουσιοδοτημένα άτομα. Η αγορά, φύλαξη, χρήση και ανταλλαγή ραδιενεργών προϊόντων υπόκεινται στη νομοθεσία της χώρας του τελικού χρήστη. Σε καμία περίπτωση δεν πρέπει να χορηγείται το προϊόν σε ανθρώπους ή ζώα.

Όλος ο χειρισμός του ραδιενεργού υλικού θα πρέπει να εκτελείται σε καθορισμένο χώρο, μακριά από χώρους τακτικής διέλευσης. Στο εργαστήριο πρέπει να διατηρείται ημερολόγιο για την παραλαβή και τη φύλαξη ραδιενεργών υλικών. Εξόπλισμός και γυάλινα σκεύη του εργαστηρίου, τα οποία θα μπορούσαν να μολυνθούν με ραδιενεργές ουσίες, θα πρέπει να φυλάσσονται σε ξεχωριστό χώρο για την πρόληψη επιμόλυνσης των διαφόρων ραδιοϊστόπων.

Τυχόν διαρροές ραδιενεργών υγρών πρέπει να καθαρίζονται αμέσως σύμφωνα με τις διαδικασίες ασφάλειας από ραδιενέργεια. Τα ραδιενεργά απόβλητα πρέπει να απορρίπτονται σύμφωνα με τους τοπικούς κανονισμούς και τις κατευθυντήριες οδηγίες των αρχών που έχουν δικαιοδοσία στο εργαστήριο. Η τήρηση των βασικών κανόνων ασφάλειας από ραδιενέργεια παρέχει επαρκή προστασία.

Τα συστατικά ανθρώπινου αίματος που περιλαμβάνονται στο κιτ αυτό έχουν ελεγχθεί με μεθόδους εγκεκριμένες στην Ευρώπη ή/και από τον FDA και έχει διαπιστωθεί ότι είναι αρνητικά ως προς την παρουσία HBsAg, αντι-HCV, αντι-HIV-1 και 2. Καμία γνωστή μέθοδος δεν είναι δυνατό να παρέχει πλήρη διασφάλιση ότι παράγωγα του ανθρώπινου αίματος δε μεταδώσουν παρατίτιδα, AIDS ή άλλες λοιμώξεις. Επομένως, ο χειρισμός αντιδραστηρίων, δειγμάτων ορού ή πλάσματος θα πρέπει να γίνεται σύμφωνα με τις τοπικές διαδικασίες περί ασφάλειας.

Όλα τα ζωικά προϊόντα και παράγωγα έχουν συλλεχθεί από υγή ζώα. Τα βόεια συστατικά προέρχονται από χώρες όπου δεν έχει αναφερθεί BSE. Παρ' όλ' αυτά, συστατικά που περιέχουν ζωικές ουσίες θα πρέπει να αντιμετωπίζονται ως δυνητικώς μολυσματικά.

Αποφεύγετε οποιαδήποτε επαφή του δέρματος με αντιδραστήρια (χρησιμοποιείται αξιόδιο του νατρίου ως συντηρητικό). Το αξιόδιο στο κιτ αυτό ενδέχεται να αντιδράσει με μόλυβδο και χαλκό των υδραντικών σωληνώσεων και να σχηματίσει με τον τρόπο αυτό ιδιαίτερα εκρηκτικά αξιόδια μετάλλων. Κατά τη διάρκεια του βήματος πλόντης, εκπλύνεται την αποχέτευση με μεγάλη ποσότητα νερού, για την πρόληψη τυχόν συστρώψεων αξιόδιου.

Μην καπνίζετε, μην πίνετε, μην τρώτε και μη χρησιμοποιείτε καλλυντικά στο χώρο εργασίας. Μην διανέμετε με πιπέτα χρησιμοποιώντας το στόμα σας. Χρησιμοποιείτε προστατευτικό ρουχισμό και γάντια μιας χρήσης.

XVIII. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Archer D.F. (1977). **Current concepts of prolactin physiology in normal and abnormal conditions.** Fertil Steril 28:125.
2. Laufer N., Botero-Ruiz W., De Chemey A.H., et al. (1984). **Gonadotropin and prolactin levels in follicular fluid of human ova successfully fertilized in vitro.** J. Clin. Endocrinol. Metab. 58:430.
3. Leong D.A., Frawley L.S., Neil J.D. (1983). **Neuroendocrine control of prolactin secretion.** An. Rev. of Physiol. 45:109.
4. Seppala M. (1978). **Prolactin and female reproduction.** An. Clin. Res. 10:164.
5. Taylor T.J., Trouson A, Besanko M., Burger H.G., Stockdale J. (1986). **Plasma progesterone and prolactin changes in superovulated women before, during and immediately after laparoscopy for in vitro fertilisation and their relation to pregnancy** Fertil. Steril 45:680.
6. Tyson J.E. (1980) **Changing role of placental lactogen and prolactin in human gestation.** Clin. Obstet. Gynecol 23:737.
7. Kamel M.A et al (1994) **Comparison between prolactin, gonadotropins and steroid hormones in serum and follicular fluid after stimulation with gonadotrophin-releasing hormone agonist and human menopausal gonadotrophin for an in-vitro fertilization program.** Hum. Reprod. 9(10):1803-6.
8. Patel D.D. et al (1994). **Plasma prolactin in patients with colorectal cancer. Value in follow-up and as a prognosticator** Cancer 73(3):570-74.
9. Hattori et al (1994). **Effects of anti-prolactin autoantibodies on serum prolactin measurements.** Eur. J. Endocrinol. 130(5):434-7.
10. Suh H.K. et al (1974). **Size heterogeneity of human Prolactin in plasma and pituitary extracts.** J. Clin. Endocrinol Metab 39 : 928-935.
11. Bonhoff A. et al (1995) **Identification of macroprolactin in a patient with asymptomatic hyperprolactinemia as a stable PRL-IgG complex.** Exp. Clin. Endocrinol. 103 : 252-5

XIX. ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΤΟΥ ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟΥ

	ΚΡΟΥΣΕΙΣ "TOTAL" ml	ΒΑΘΜΟΝΟΜΗΤΕΣ ml	ΔΕΙΓΜΑ(TA) ml
Βαθμονομητές (0-5) Δείγματα Ιχνηθέτης	- 0,200	0,025 - 0,200	- 0,025 0,200
Επώαση	2 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου (18-25°C)		
Διαχωρισμός Διάλυμα πλάσης Διαχωρισμός	- - -	Αναρρόφηση (ή μετάγγιση) 2 ml Αναρρόφηση (ή μετάγγιση)	
Μέτρηση	Μέτρηση σωληναρίων επί 60 δευτερόλεπτα		



pl

Przed użyciem zapoznaj się z treścią instrukcji.

PRL-IRMA

I. PRZENACZENIE

Zestaw immunoradiometrycznego do ilościowego oznaczania prolaktyny (PRL) ludzkiej w ludzkiej surowicy i osoczu.

II. INFORMACJE OGÓLNE

- A. Nazwa zestawu: DIAsource PRL-IRMA Kit

B. Numer katalogowy: KIP1441: 96 oznaczeń

C. Producent: DIAsource ImmunoAssays S.A.
Rue du Bosquet, 2, B-1348 Louvain-la-Neuve, Belgium.

W celu uzyskania pomocy technicznej lub informacji odnośnie zamówień prosimy o kontakt:
Tel: +32 (0)10 84.99.11 **Fax: +32 (0)10 84.99.91**

III. ZASTOSOWANIE KLINICZNE

A. Aktywność biologiczna

Prolaktyna (PRL) jest polipeptydowym hormonem (masa cząsteczkowa 20 000 Da) wydzielanym przez gruczoł przysadki mózgowej, pełniącym kluczową rolę w rozwoju gruczołów sutkowych, produkcji i wydzielaniu mleka oraz kontroli funkcji gonad męskich i żeńskich. Wydzielanie prolaktyny kontrolowane jest przez podwzgórze poprzez bezpośredni wpływ dopaminy, kilku czynników stymulujących uwalnianie prolaktyny (PRF) oraz prawdopodobnie naczynioruchowego polipeptydu jelitowego (VIP) lub peptydu ściśle spokrewnionego. Hormon uwalniający tyretropinę (TRH) ma również bezpośredni wpływ na poziom przysadki, stymulując uwalnianie prolaktyny, jednak jego rola fizjologiczna w kontroli wydzielania prolaktyny nie została jeszcze ustalona. Kilka czynników neuroendokrynnych, wraz ze szlakami serotoninoenergicznymi lub noradrenergicznymi, również wpływa na kontrolę wydzielania prolaktyny. Stężenie prolaktyny w osoczu wzrasta w różnych sytuacjach fizjologicznych, takich jak stres, ciąża czy laktacja. Poziomy fizjologiczne wahają się zgodnie z rytmem dobowym, ze znacznym wzrostem obserwowanym podczas nocy. Leki o aktywności przeciw-dopaminowej (środki psychotropowe) oraz środki hamujące jajeczkowanie powodują wzrost wydzielania prolaktyny.

B. Zastosowanie kliniczne

- Prolactinoma:* Poziomy prolaktyny w krażeniu podwyższone są u pacjentów z gruczołakiem przysadki wydzielającej prolaktynę. Charakterystycznymi objawami w takich przypadkach jest brak miesiączki oraz impotencja.
 - Inne choroby przysadki:* Zwiększone poziomy prolaktyny obserwuje się również u 5% do 20% pacjentów z akromegalią oraz w przypadku, gdy stłumiona zostaje kontrola przysadki przez podwzgórze (przecięcie szypuły przysadki). Obniżone poziomy PRL można zaobserwować w przypadkach całkowitego uszkodzenia przysadki, jak na przykład przy zespole Sheehana.
 - Mleketok (galactorrhea) i brak miesiączki (amenorrhoea):* Pomiar poziomów prolaktyny w osoczu jest przydatnym testem w rozpoznaniu różnicowym mleketoku oraz braku miesiączki.

IV. ZASADA DZIAŁANIA TESTU

DIAsource PRL-IRMA jest testem immunoradiometrycznym opartym na separacji probówek opłaszczonej przeciwiałami. Mabs1. Przeciwiała te są przytwierdzone do dolnej, wewnętrznej powierzchni plastikowej próbówki. Do próbówek dodaje się kalibratory lub badane próbki, wykazujące niskie powinowactwo do Mab 1. Dodanie drugiego przeciwiałka Mab 2 anty PRL znakowanego ^{125}I powoduje rozpoczęcie reakcji immunologicznej i utworzenie kompleksu typu sandwich: Mab1/cząsteczka PRL/Mab2.

Po inkubacji usuwa się nadmiar antygenu, próbówkę się przepłukuje i mierzy się związana z próbówkami aktywność, będącą miarą stężenia dodanego antygenu. Użycie kilku różnych przeciwiał Mabs pozwala uniknąć nadmiernej specyficzności.

V. SKŁAD ZESTAWU

Odczynniki	ilość 96 oznaczeń	kolor odczynnika	Rozcieńczanie
Probówki opłaszczone przeciwiałami przeciw PRL (przeciwiała monoklonalne)	2 x 48	pomarańczowy	gotowe do użycia
Ab ^{125}I Przeciwiała Anti-PRL- ^{125}I (przeciwiała monoklonalne) w Buforze TRIS z albuminą surowicy wołowej, azydkiem sodu (0,5 %) oraz obojętnym czerwonym barwnikiem	1 fiołka 22 ml 340 kBq	czerwony	gotowe do użycia
CAL 0 Kalibrator zerowy w surowicy wołowej z tymolem	1 fiołka liofilizat	żółty	Dodać 2 ml wody destylowanej
CAL N Kalibrator 1-5 w surowicy wołowej z tymolem (patrz: dokładne wartości na etykietach fiolek)	5 fiołki liofilizat	żółty	Dodać 0,5 ml wody destylowanej
WASH SOLN CONC Roztwór pluczający (TRIS-HCl)	1 fiołka 10 ml	brązowy	Rozcieńczyć 70 x w wodzie destylowanej (użyć mieszadła magnetycznego)
CONTROL N Kontrole 1 i 2 w osocze ludzkiej z tymolem	2 fiołki liofilizat	srebrny	Dodać 0,5 ml wody destylowanej

Uwaga: Do rozcieńczania surowic używać kalibratora 0.

1 ng kalibratora odpowiada 29 μIU NIBSC 3rd IRP 84/500.

Współczynnik konwersji : $\text{ng/ml} \times 29 = \mu\text{UI}/\text{ml}$

VI. DODATKOWE MATERIAŁY I WYPOSAŻENIE

Do wykonania testu są konieczne, a nie dostarczone wraz z zestawem:

1. woda destylowana
2. mikropipety z końcówkami do dozowania 25 μl , 200 μl , 500 μl i 2ml (zaleca się używanie wykalibrowanych pipet z końcówkami wymiennymi)
3. wtryszarka
4. mieszadło magnetyczne
5. automatyczna strzykawka 5ml (typ Cornwall) do plukania
6. system do odciągania płynu (opcjonalny),
7. licznik promieniowania gamma (minimalna czułość 70%)

VII. PRZYGOTOWANIE ODCZYNNIKÓW

- A. **Kalibrator:** Do kalibratora zero dodać 2 ml wody destylowanej, do pozostałych dodać po 0,5 ml wody destylowanej.
 B. **Kontrole:** Dodać do każdej po 0,5 ml wody destylowanej.
 C. **Roztwór pluczający:** Rozcieńczyć roztwór pluczający: zmieszać 1 część roztworu pluczającego z 69 częściami wody destylowanej (rozcieńczanie 70-krotne). W celu wymieszania użyć mieszadła magnetycznego lub homogenizatora. Pod koniec dnia roboczego niezużyty płyn wylać.

VIII. PRZECHOWYWANIE ORAZ OKRES WAŻNOŚCI ODCZYNNIKÓW I PRÓBEK

- Wszystkie odczynniki zestawu przed ich otwarciem i rekonstytuowaniem są ważne do końca daty ważności podanej na etykietach. Przechowywać w temperaturze 2-8°C.
- Zrekonstytuowane odczynniki - kalibratory oraz kontrole - są stabilne przez okres 7 dni w temperaturze 2-8°C. Warunki dłuższego przechowywania odczynników to temperatura -20°C max. przez okres 3 miesięcy. Unikać wielokrotnego rozmrażania i zamrażania.
- Świeżo przygotowany roztwór pluczający należy użyć tego samego dnia.
- Znacznik przechowywany w oryginalnym opakowaniu w temperaturze 2 do 8°C, szczelnie zamknięty zachowuje swoje właściwości do końca terminu ważności.
- Zmiany wyglądu odczynników zestawu mogą wskazywać na ich rozkład lub niestabilność.

IX. PRZYGOTOWANIE I PRZECHOWYWANIE PRÓBEK

- Surowica i osocze powinny być przechowywane w temp. 2-8°C.
- Jeżeli test nie będzie wykonywany w ciągu 24 godzin, zaleca się zamrożenie próbek w temp. -20°C.
- Nie używać próbek lipemicznych.
- Oznaczenia w surowicy, heparynizowanym osoczu i osoczu z EDTA dają podobne wyniki

$$Y(\text{osocze heparynizowane}) = 0,90x(\text{surowica}) + 0,06 \quad r = 0,98$$

n = 19

$$Y(\text{osocze EDTA}) = 0,91x(\text{surowica}) + 0,46 \quad r = 0,99$$

n = 19

X. PROCEDURA

- A. Przestrzeganie następujących zasad zagwarantuje powtarzalność oznaczeń
 Nie należy wykonywać testu po upływie daty ważności odczynników.
 Nie należy łączyć odczynników z różnych zestawów, posiadających inny numer serii.
 Przed wykonaniem testu składniki zestawu należy doprowadzić do temperatury pokojowej (18-25°C).
 Dokładnie wymieszać wszystkie odczynniki oraz próbki poprzez delikatne wyrządzanie.
 Zapobiegać zanieczyszczeniom odczynników i wody przez drobnoustroje. Stosować wymienialne, jednorazowe końcówki do pipet osobne dla każdego odczynnika i dla każdej próbki. Używać wody destylowanej i czystych pojemników. Używać wykalibrowanych pipet w celu zapewnienia precyzji oznaczeń.
 Do każdego cyklu oznaczeń należy wykonać nową krzywą standardową.

B. Procedura

1. Oznaczyć w dubletach próbówki opłaszczone dla każdego kalibratora, próbki badanej i kontroli. Do oznaczania zliczeń całkowitych oznaczyć dwie zwykłe próbówki.
2. Wymieszać kalibratory, kontrole i próbki badane na wtryszarsce typu vortex, po czym dodawać po 25 μl każdego z nich do odpowiednich próbówek.
3. Dodawać po 200 μl znacznika anty-PRL- ^{125}I do każdej próbówki, łącznie z próbówkami dla zliczeń całkowitych.
4. Wstrząsać delikatnie statywem, aby uwolnić bąbelki powietrza.
5. Inkubować przez 2 godziny w temperaturze pokojowej (18-25°C).
6. Odciągnąć płyn z każdej próbówki (lub zdekantować) z wyjątkiem próbówek do zliczeń całkowitych. Należy upewnić się, że plastikowa końcówka odciągacza znajduje się na dnie próbówki, w celu odcięcia całego płynu.
7. Przepłukać próbówki za pomocą 2 ml roztworu pluczającego (z wyjątkiem próbówek do zliczeń całkowitych). Unikać spieniania przy pipetowaniu.
8. Odciągnąć (lub zdekantować) zawartość każdej próbówki (z wyjątkiem próbówek do zliczeń całkowitych).
9. Pozostawić próbówki stojące w pozycji pionowej na dwie minuty, po czym zassąć pozostałe krople cieczy.
10. Zliczyć aktywność związaną z próbówkami na liczniku promieniowania gamma przez 60 sekund.

XI. OBLICZANIE WYNIKÓW

1. Policzyć wartości średnie z dubletów.
2. Wykreślić krzywą dla każdego kalibratora: aktywność c.p.m. (oszczędnych) względem odpowiednich stężeń PRL (os odciętych), po czym

poprowadzić krzywą wzorcową przez punkty kalibracji, odrzucić wyniki krajów.

3. Odczytać stężenie każdej kontroli i próbki poprzez interpolację na krzywej wzorcowej.
4. Powyższe obliczenia można uprościć, stosując komputerową redukcję danych. W przypadku użycia automatycznego obliczania wyników, zaleca się wykorzystanie 4-parameterowej funkcji krzywej logistycznej.

XII. PRZYKŁAD TYPOWEJ KRZYWEJ WZORCOWEJ

Poniższe dane są jedynie przykładem i nie powinny być używane w miejscu rzeczywistej krzywej wzorcowej.

PRL-IRMA		cpm	B/T (%)
Ilość zliczeń TOTAL		144108	100
Kalibrator	0,0 ng/ml 2,88 ng/ml 8,41 ng/ml 25,50 ng/ml 87,20 ng/ml 205,00 ng/ml	254 1544 3913 9828 24551 41925	0,18 0,90 2,54 6,64 16,86 28,92

XIII. CHARAKTERYSTYKA OZNACZENIA I OGRANICZENIA

A. Czulość zestawu

LoB (Limit of Blank) obliczono mierząc kilka razy ślepą próbę i obliczono jako średnią + 2 odchylenie standardowe rozkładu wartości testowych; obliczono LoB na 0,18 ng / ml.

LoD (granica wykrywalności) obliczono jako odchylenie standardowe LoB + 1,645 próbki o niskim stężeniu badanej w 9 różnych seriach. LoD obliczono na 0,76 ng / ml.

LoQ (granica kwantyfikacji) została obliczona przez testowanie 5 próbek o niskich wartościach, 9 razy. Obliczono LoQ na 1,26 ng / ml.

B. Specyficzność

Reakcje krzyżowe antygenów były mierzone przy niskiej i wysokiej wartości PRL.

Dodany hormon	Próbka 1 ng/ml	Próbka 2 ng/ml
-	16,8	57,1
LH 750 mIU/ml	18,0	55,0
hCG 500000 mIU/ml	18,8	56,1
-	16,9	51,9
FSH 500 mIU/ml	17,4	58,8
-	17,0	54,4
hPL 100000 ng/ml	18,0	56,4
-	18,0	56,5
hGH 125 ng/ml	18,3	57,1
-	16,9	52,2
TSH 740 mIU/ml	17,8	54,8

W teście DIAsource PRL-IRMA oznaczana jest prolaktyna (PRL) całkowita, czyli zarówno aktywny monomer prolaktyny, jak i biologicznie nieaktywna makropolrolaktyna (patrz piśmiennictwo, pozycje 10 i 11).

W przypadku pacjentów, którzy w tym teście (zestawie) wykazują podwyższony poziom PRL, w celu postawienia prawidłowego rozpoznania konieczne jest uzyskanie dodatkowych informacji.

Oceniono potencjalnie zakłócające działanie hemoglobiny w dawce 500 mg / dl i biliрубiny w dawce 100 mg / dl. Wyniki tego testu nie wykazują żadnych znaczących zakłóceń, jak pokazano w poniższej tabeli.

Jednak zaobserwowano interferencję z triglicerydami ze stężeniem 62,5 mg / dl, jak pokazano w poniższej tabeli.

Dlatego należy unikać próbek lipemicznych.

Substancja zakłócająca	Osocze1 (ng/ml)	Osocze2 (ng/ml)	Serum 1 (ng/ml)
-	17,8	56,6	13,2
Hemoglobina	18,2	57,1	13,4

-	18,7 18,0	54,8 57,5	14,0 13,8
-	19,3 16,7	64,1 47,6	13,1 11,3

C. Precyzja

zmiennaśmiędzyseryjna				zmiennaśmiędzyseryjna			
Próbka	Replikat	$\text{\langle X \rangle \pm S.D. (ng/ml)}$	CV (%)	Próbka	Replikat	$\text{\langle X \rangle \pm S.D. (ng/ml)}$	CV (%)
A	10	$19,4 \pm 0,5$	2,6	A	15	$20,3 \pm 0,7$	3,5
B	10	$63,1 \pm 1,5$	2,4	B	15	$63,6 \pm 2,4$	3,7

SD: odchylenie standardowe; CV: współczynnik zmienności

D. Dokładność

ODZYSK

Próbka	Dodane PRL (ng/ml)	Odzyskane PRL (ng/ml)	Odzysk (%)
1	63 78,1 104,7 112,7	59,7 80,7 102,4 117,3	94,7 103,3 97,7 104,1
2	63 78,1 104,7 112,7	58,0 75,7 101,3 112,1	92,0 96,9 96,7 99,5

TEST ROZCIEŃCZANIA

Próbka	Proporcja	Stężenie teoretyczne (ng/ml)	Stężenie zmierzone (ng/ml)
1	1/1 1/2 1/4 1/8	- 75,7 37,9 18,9	151,5 81,6 38,5 16,7
2	1/1 1/2 1/4 1/8 1/16	- 91,7 45,8 22,9 11,5	183,4 104,1 47,9 22,4 10,1

Próbki rozcieńczone za pomocą kalibratora zerowego.

E. Przesunięcie czasowe w trakcie dozowania

Upływ czasu między dodaniem ostatniego kalibratora a dozowaniem próbki nie przekraczający 60 minut nie ma wpływu na wartość wyniku.

CZAS PRZESUNIECIA

	0' (ng/ml)	15' (ng/ml)	30' (ng/ml)	60' (ng/ml)
Próbka 1	19,5	20,2	21,3	20,4
Próbka 2	67,4	65,2	64,3	63,4

F. Efekt wysokich dawek (Hook effect)

Próbki o stężeniu PRL do 16000 pg/ml dają odczyt powyżej wartości ostatniego kalibratora.

Zakres pomiarowy: od 1,26 (LoQ) do 16000 ng / ml (Efekt wysokich dawek)

XIV. OGRANICZENIA

- Próbki od pacjentów, którzy w celach diagnostycznych lub terapeutycznych otrzymywali preparaty z mysich przeciwciał monoklonalnych, mogą zawierać ludzkie przeciwciała anty-mysie (HAMA). Próbki takie, oznaczane z użyciem zestawów testowych wykorzystujących mysie przeciwciała monoklonalne, mogą wykazywać wartości fałszywie zawyżone lub zaniżone.

- Przeciwciała heterofilne w ludzkiej surowicy mogą reagować z immunoglobulinami odczynnika, interferując z oznaczeniami immunologicznymi przeprowadzanymi in vitro.

Pacjenci rutynowo eksponowani na zwierzęta lub produkty z surowic zwierzęcych mogą wykazywać skłonność do takich interferencji i w razie obecności przeciwciał heterofilnych występować mogą u nich nieprawidłowe wyniki testów. Wyniki oznaczeń próbek od pacjentów z takimi przeciwciałami należy interpretować z ostrożnością.

Jeżeli wyniki nie są zgodne z obserwacjami klinicznymi, przed postawieniem rozpoznania powinny być uzyskane dodatkowe informacje.

XV. WEWNĘTRZNA KONTROLA JAKOŚCI

- Jeżeli wyniki otrzymane dla Kontroli 1 i Kontroli 2 nie mieszczą się w przedziale wartości przedstawionym na fiolece, nie wolno ich wykorzystywać do momentu wyjaśnienia zaistniającej sytuacji.
- Jeżeli zajdzie potrzeba, laboratorium może przygotować własne kontrole powstałe po połączeniu wielu surowic. Surowice kontrolne powinny być przechowywane zamrożone w porcjach do jednorazowego użycia.
- Akceptowalna wielkość rozrzutów przy oznaczaniu próbek w dubletach odnosi się do kryteriów Dobrej Praktyki Laboratoryjnej

XVI. ZAKRES NORMY

Każde laboratorium powinno ustalić własne zakresy normy. Normy podane poniżej należy traktować jako wskazówkę

Stężenia PRL zostały zmierzone w próbkach surowicy otrzymanej od zdrowych osobników z różnych kategorii.

Identyfikacja	Liczba osobników	Średnia (ng/ml)	Zakres (2,5-97,5 centyla) (ng/ml)
Samce	40	8,5	3,0 – 18,8
Kobiety (18-60 lat)	31	9,2	3,0 – 16,5
Kobiety (> 60 lat)	37	7,2	3,8 – 18,1

XVII. OSTRZEŻENIA I ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

Bezpieczeństwo

Zestaw jest przeznaczony jedynie do diagnostyki in vitro.

Zestaw zawiera ^{125}I (Okres połowicznego rozpadu: 60 dni), emitujący promieniowanie jonizujące X (28 keV) i γ (35,5 keV).

Przestrzeganie podstawowych zasad ochrony radiologicznej gwarantuje bezpieczeństwo.

Produkty radioaktywne mogą być nabywane, otrzymywane, przechowywane i używane jedynie przez osoby do tego upoważnione oraz w laboratoriach posiadających odpowiednią autoryzację. Roztwory w żadnym przypadku nie mogą być podawane ludziom ani zwierzętom.

Zasady stosowania produktów radioaktywnych regulują przepisy danego kraju.

Materiały promieniotwórcze można wykorzystywać w obszarach specjalnie do tego przeznaczonych. Laboratorium powinno prowadzić dziennik przechowywanych materiałów promieniotwórczych. Aparatura laboratoryjna oraz wyroby szklane, które mogą ulec skażeniu przez materiały promieniotwórcze, powinny zostać oddzielone, w celu uniknięcia ich skażenia.

Każdy wyciek radioaktywny należy natychmiast zmyć zgodnie z lokalną procedurą bezpieczeństwa promieniotwórczego. Odpady radioaktywne należy usuwać zgodnie z przepisami prawnymi obowiązującymi w danym państwie. Postępowanie wg podstawowych zasad bezpieczeństwa radioaktywnego zapewnia wystarczającą ochronę.

Odczynniki zestawu zawierające składniki pochodzenia ludzkiego zostały przetestowane licencjonowanymi zestawami (sprawdzone metodami Europejskimi zatwierdzone przez FDA) i wykluczono obecność przeciwciał anty-HIV 1, anty-HIV 2, anty- HCV i antygenu HBs. Mimo to nie ma jednak pełnej gwarancji, że takie składniki nie mogą przenosić żółtaczki, wirusów HIV czy innych infekcji wirusowych – dlatego też zarówno te odczynniki, jak i próbki pacjentów należy traktować jako potencjalne źródło zakażenia.

Składniki pochodzenia zwierzęcego w odczynnikach zestawu, zostały pobrane od zwierząt zdrowych. Składniki pochodzenia wołowego pochodzą z państw, gdzie nie stwierdzono przypadków zarażenia BSE. Mimo to, wszystkie próbki pochodzenia zwierzęcego należy traktować jako potencjalnie zakaźne.

Unikać kontaktu ze skórą jakiegokolwiek z odczynników (azydek sodu jako konserwant). Azydek sodu może reagować z ołowianymi lub miedzianymi rurami, w wyniku czego mogą odkładać się na nich wybuchowe azydki metali. Aby temu zapobiec należy po wyaniu odpadów dobrze przepłukać rury kanalizacyjne.

Nie palić, nie jeść, nie pić ani nie używać kosmetyków w obszarze pracy. Nie pipetować ustami. Zakładać odzież ochronną i gumowe rękawiczki.

XVIII. BIBLIOGRAFIA

1. Archer D.F. (1977). **Current concepts of prolactin physiology in normal and abnormal conditions.** Fertil Steril 28:125.
2. Laufer N., Botero-Ruiz W., De Chemey A.H., et al. (1984). **Gonadotropin and prolactin levels in follicular fluid of human ova successfully fertilized in vitro.** J. Clin. Endocrinol. Metab. 58:430.
3. Leong D.A., Frawley L.S., Neil J.D. (1983). **Neuroendocrine control of prolactin secretion.** An. Rev. of Physiol. 45:109.
4. Seppala M. (1978). **Prolactin and female reproduction.** An. Clin. Res. 10:164.
5. Taylor T.J., Trouson A., Besanko M., Burger H.G., Stockdale J. (1986). **Plasma progesterone and prolactin changes in superovulated women before, during and immediately after laparoscopy for in vitro fertilisation and their relation to pregnancy** Fertil. Steril 45:680.
6. Tyson J.E. (1980) **Changing role of placental lactogen and prolactin in human gestation.** Clin. Obstet.Gynecol 23:737.
7. Kamel M.A et al (1994) **Comparison between prolactin, gonadotropins and steroid hormones in serum and follicular fluid after stimulation with gonadotrophin-releasing hormone agonist and human menopausal gonadotrophin for an in-vitro fertilization program.** Hum. Reprod. 9(10):1803-6.
8. Patel D.D. et al (1994). **Plasma prolactin in patients with colorectal cancer. Value in follow-up and as a prognosticator** Cancer 73(3):570-74.
9. Hattori et al (1994). **Effects of anti-prolactin autoantibodies on serum prolactin measurements.** Eur. J. Endocrinol. 130(5):434-7.
10. Suh H.K. et al (1974). **Size heterogeneity of human Prolactin in plasma and pituitary extracts.** J. Clin. Endocrinol Metab 39 : 928-935.
11. Bonhoff A. et al (1995) **Identification of macroprolactin in a patient with asymptomatic hyperprolactinemia as a stable PRL-IgG complex.** Exp. Clin. Endocrinol. 103 : 252-5

XIX. SCHEMAT PROCEDURY

LICZBA ZLICZEŃ CAŁKOWITYCH ml	KALIBRATORY ml	PRÓBKA(I)/ KONTROLE ml
Kalibratory (0-5) Próbki, Kontrole Znacznik	- 0,200	0,025 - 0,200
inkubacja		2 godziny w temperaturze pokojowej (18-25°C)
Separacja Roztwór płuczący Separacja	- -	zassać (lub zdekantować) 2 ml zassać (lub zdekantować)
liczenie aktywności		pomiar próbówek przez 60 sekund

bu



Прочетете целия протокол преди употреба

PRL-IRMA

I. УПОТРЕБА

Имунорадиометричен набор за количествени измервания *in vitro* на човешки пролактин (PRL) в серум и плазма.

II. ОБЩА ИНФОРМАЦИЯ

A. Патентовано име:	DIAsource PRL-IRMA Kit
B. Каталожен номер:	KIP1441: 96 теста
C. Произведено от:	DIAsource ImmunoAssays S.A. Rue du Bosquet, 2, B-1348 Louvain-la-Neuve, Belgium.

За техническа помощ или поръчка:
Тел.: +32 (0)10 84.99.11 Факс: +32 (0)10 84.99.91

III. КЛИНИЧЕН ПРЕГЛЕД

A. Биологична активност

Пролактинът (PRL) е полипептиден хормон (молекулно тегло 20 000 Da), който се секретира от хипофизата и играе ключова роля в развитието на млечните жлези, производството и отделянето на кърмата и контролирането на гонадните функции и при двата пола. Пролактиновата секреция е под контрола на хипоталамуса, упражнен директно посредством допамин, няколко пролактин-освобождаващи фактори (PRF) и вероятно VIP (вазоактивен интестинален пептид) или тясно свързан пептид, TRH (Тиротропин освобождаващ хормон) също действа директно на ниво хипофиза, за да стимулира освобождаването на пролактин, но неговата физиологична роля в контрола на пролактиновата секреция все още не е установена. Няколко невроендоринни фактори, включващи серотонинергични или норадренергични механизми, също се включват в регулацията на пролактиновата секреция. Плазмената концентрация на пролактин нараства при различни физиологични състояния като например стрес, бременност и лактация. Физиологичните нива флукутират в съответствие с денонощния ритъм като се наблюдава значимо увеличение през нощта. Лекарствата с антидопаминово действие (психотропни средства) и супресорите на овуляцията увеличават пролактиновата секреция.

B. Клинично приложение

- *Пролактином* : Пролактиновите нива в кръвообращението са увеличени при пациенти с пролактин секретиращ хипофизарен аденом. Аменорея и импотентност са характерните клинични симптоми в тези случаи.
- *други заболявания на хипофизата*: Увеличени пролактинови нива се установяват в 5% до 20% от случаите на акромегалия и когато хипофизарният контрол от хипоталамуса е потиснат (стъбло на хипофизата). Намалени нива на PRL могат да се наблюдават в случаите на пълна деструкция на хипофизата при синдрома на Sheehan.
- *Галакторея и аменорея* : Измерването на пролактиновите нива в серума е полезен тест за диференциалната диагноза на галакторея и аменорея.

IV. ПРИНЦИПИ НА МЕТОДА

DIAsource PRL-IRMA е имунарадиометрично изследване на база на сепарация на покрити епруветки. Mabs1 (моноклонални антитела 1), които са прихващащи антитела, са разположени по долната и вътрешната повърхност на пластмасовата епруветка. Калибраторите или пробите, които се добавят към епруветките отначало показват слаб афинитет към Mabs1. Добавянето на Mabs2, които са сигнални антитела, маркирани с ^{125}I , завършват системата и пускат в ход имунарадиометричната реакция. След измиване остатъчната радиоактивност, свързана с епруветката, отразява антигенната концентрация. Използването на няколко различни Mabs предотвратява развитието на хиперспецифичност.

V. ИЗПОЛЗВАНИ РЕАГЕНТИ

Реагенти		Количество 96 теста	Цветен код	Пригответие
	Епруветки, покрити с анти-PRL (моноклонални антитела)	2 x 48	оранжев	Готов за употреба
Ab 125I	Анти-PRL- ^{125}I (моноклонални антитела) антитела в TRIS Буфер със свински серумен албумин, натриев азид (0.5%) и инертна червена боя	1 флакон 22 ml 340 kBq	червен	Готов за употреба
CAL 0	Нулев Калибратор във волски серум с тимол	1 флакон лиофилизиран	жълт	Добавете 2 ml дестилирана вода
CAL N	Калибратори 1-5 във волски серум с тимол (виж точните стойности на етикетите на флаконите)	5 флакона лиофилизираны	жълт	Добавете 0,5 ml дестилирана вода
WASH SOLN CONC	Измиващ разтвор (TRIS-HCl)	1 флакон 10 ml	кафяв	Разредете 70x с дестилирана вода (използвайте магнитен сепаратор)
CONTROL N	Контроли 1 и 2 в човешка плазма с тимол	2 флакона Лиофилизираны	сребрен	Добавете 0,5 ml дестилирана вода

Забележка: 1. Използвайте нулевия калибратор за серумните разреждания.
 2. 1 ng от калибрирания препарат е еквивалентен на 29 μIU от 3rd IS 84/500.
 3. Фактор на превръщане: :ng/ml x 29= $\mu\text{UI} / \text{ml}$

VI. СРЕДСТВА, КОИТО НЕ СЕ ОСИГУРЯВАТ

Следните материали са необходими, но не се осигуряват в набора:

- Дестилирана вода
- Пипети от: 25 μl , 200 μl , 500 μl и 2 ml (препоръчва се използването на прецизни пипети с накрайници за еднократна употреба).
- Завихрящ смесител
- Магнитен сепаратор
- 5 ml автоматична спринцовка (тип Cornwall) за измиване
- Аспирационна система (по избор).
- Всякакъв гама брояч, който може да измери употребленото количество ^{125}I (минимален капацитет от 70%)

VII. ПРИГОТВЯНЕ НА РЕАГЕНТА

- Калибратори:** Реконституирайте нулевия калибратор с 2 ml дестилирана вода, а другия калибратор – с 0,5 ml дестилирана вода.
- Контроли:** Реконституирайте контролите с 0,5 ml дестилирана вода.
- Работен измиващ разтвор:** Подгответе адекватен обем от работния измиващ разтвор чрез добавянето на 69 обема дестилирана вода към 1 обем от измивачия разтвор (70x). Използвайте магнитен сепаратор, за да хомогенизирате. Изхвърлете неупотребеното количество от работния измиващ разтвор в края на деня.

VIII. СЪХРАНЕНИЕ И СРОК НА ГОДНОСТ НА РЕАГЕНТИТЕ

- Всички компоненти на кита са стабилни до датата на срока на годност, посочен на опаковката, при температура на съхранение от 2 °C до 8°C преди отваряне или реконституиране.
- След реконституиране, калибраторите и контролите са стабилни за срок от 7 дни при температури 2-8°C. За по-дълги срокове на съхранение, се определя кратко и се съхранява при температура -20 °C за максимум 3 месеца. Избегвайте последващи цикли на замразяване-размразяване.
- Прясно пригответия Работен измиващ разтвор трябва да бъде използван същия ден.
- След първата употреба, трейсера е стабилен до изтичане срока на годност, ако се съхранява в оригиналния добре затворен флакон при температури 2-8°C.
- Промени във физическия вид на реагентите на кита индицират нестабилност или негодност.

IX. СЪБИРАНЕ НА ПРОБИТЕ И ОБРАБОТКА

- Серумът и плазмата трябва да се съхраняват при температури 2 – 8°C.
- Ако тестът не се направи в рамките на 24 часа, се препоръчва съхранение при температура -20°C.
- Избегвайте последващи цикли на замразяване-размразяване.
- Не използвайте липемични проби.
- Серумът или плазмата (с EDTA или хепаринизирана) показват подобни резултати.

$$\text{Y (хепаринизирана плазма)} = 0,90x \text{ (серум)} + 0,06 \quad r = 0,98 \quad n = 19$$

$$\text{Y (плазма с EDTA)} = 0,91x \text{ (серум)} + 0,46 \quad r = 0,99 \quad n = 19$$

X. ПРОЦЕДУРА

A. Общи бележки

Не използвайте кита или компонентите му след датата на изтичане срока на годност. Не смесвайте материали от различни партиди китове. Преди употреба оставете всички реагенти на стайна температура (18-25°C). Внимателно смесвайте всички реагенти с пробите чрез нежно раклащане или въртеливо размесване. За да избегнете кърстосана контаминация, използвайте чист пипетен накрайник за еднократна употреба за добавянето на всеки реагент към съответната проба. Високо прецизираните пипети или автоматичните пипети биха подобрili точността. Съобразявайте се с времето за инкубация. Подгответе калибрационна крива за всяко измерване и не използвайте данни от предишни измервания.

B. Процедура

- Означете две по две покритите епруветки за всеки калибратор, контрола и прока. За определяне на общия брой импулси, обозначете 2 нормални епруветки.
- Разклатете за кратко време калибраторите, контролите и пробите и разпределете по 25 μl от всяко в съответните епруветки.
- Разпределете 200 μl от анти-PRL- ^{125}I трейсер във всяка епруветка, включително и в епруветките без покритие за общия брой импулси.
- Разтърсете нежно с ръка стойката с епруветките, за да освободите някое остатъчно въздушно мяухче.
- Инкубирайте за 2 часа при стайна температура (18-25°C).
- Аспирирайте (или прелейте) съдържанието на всяка епруветка (освен епруветките за определяне на общия брой импулси). Уверете се, че пластмасовият край на аспиратора достига дъното на покритата епруветка, за да може да отстрани цялата течност.
- Изплакнете епруветките с 2 ml от Измиващия разтвор (освен епруветките за определяне на общия брой импулси). Избегвайте получаването на пяна по време на добавянето на Работния измиващ разтвор.
- Аспирирайте (или прелейте) съдържанието на всяка епруветка (освен епруветките за определяне на общия брой импулси).
- Оставете епруветките в изправено положение за две минути и аспирирайте оставащите капки от течността.
- Отчетете епруветките в гама брояч за 60 секунди.

XI. ИЗЧИСЛЯВАНЕ НА РЕЗУЛТАТИТЕ

- Изчислете средното аритметично на резултатите, получени от две по две епруветки.
- Нанесете (на ординатата) броят на минута за всеки калибратор (общ брой импулиси в минута) спрямо (на абсцисата) съответната концентрация на PRL и начертайте калибрационна криза през калибрационните точки като не включвате точките, които очевидно не принадлежат към тази криза.
- Прочетете концентрациите за всяка контрола и проба чрез интерполиране върху калибрационната криза.
- Тези изчисления могат да се улеснят чрез асистирано редуциране на данните посредством компютър. Ако се използва автоматична обработка на резултатите, се препоръчва прилагането на 4- параметрова логистична функционална криза.

XII. ХАРАКТЕРНИ ДАННИ

Данните, изложени по-долу са само за илюстрация и никога не бива да се използват вместо истинската калибрационна криза.

PRL-IRMA		срт	B/T (%)
Общ брой		144108	100
Калибратор			
	0,0 ng/ml	254	0,18
	2,88 ng/ml	1544	0,90
	8,41 ng/ml	3913	2,54
	25,50 ng/ml	9828	6,64
	87,20 ng/ml	24551	16,86
	205,00 ng/ml	41925	28,92

XIII. ИЗПЪЛНЕНИЕ И ОГРАНИЧЕНИЯ

A. Определен лимит

LoB (Limit of Blank) се изчислява чрез измерване на заготовката няколко пъти и се изчислява като средно + 2 стандартно отклонение на разпределението на стойностите на теста; LoB се изчислява на 0,18 ng / ml.

LoD (лимитът на откриване) се изчислява като LoB + 1,645 стандартно отклонение на проба с ниска концентрация, тествана в 9 различни серии. LoD се изчислява на 0,76 ng / ml.

LoQ (лимитът на количествено определяне) се изчислява чрез тестване на 5 преби с ниски стойности, 9 пъти. LoQ се изчислява на 1,26 ng / ml.

B. Специфичност

Хормони с кръстосана реактивност са добавени към калибратор за ниски и високи стойности на PRL. Явният PRL отговор е измерен.

добавен хормон	Проба 1 ng/ml	Проба 2 ng/ml
-	16,8	57,1
LH 750 mIU/ml	18,0	55,0
hCG 500000 mIU/ml	18,8	56,1
-	16,9	51,9
FSH 500 mIU/ml	17,4	58,8
-	17,0	54,4
hPL 100000 ng/ml	18,0	56,4
-	18,0	56,5
hGH 125 ng/ml	18,3	57,1
-	16,9	52,2
TSH 740 mIU/ml	17,8	54,8

PRL-IRMA на Биосорс измерва тоталния Пролактин, което означава активният пролактинов мономер и биологично неактивният макропролактин (виж референции 10 и 11).

За пациенти с високо ниво на Пролактин, при прилагане на този кит, е необходимо получаването на допълнителна информация за установяване на точната диагноза.

Оценени са потенциално въздействащите ефекти на хемоглобина при 500 mg / dl и на билирубина при 100 mg / dl. Резултатите от този тест не показват значителна намеса, както е показано в таблицата по-долу. Наблюдава се общая намеса с триглицериди от концентрация 62,5 mg / dl, както е показано в таблицата по-долу.

Затова липемичните преби трябва да се избегват.

Интерфериращо вещество	плазма1 (ng/ml)	плазма2 (ng/ml)	серум1 (ng/ml)
- хемоглобин	17,8 18,2	56,6 57,1	13,2 13,4
- билирубин	18,7 18,0	54,8 57,5	14,0 13,8
- триглицеридите	19,3 16,7	64,1 47,6	13,1 11,3

C. Прецизност

ПО ВРЕМЕ НА ИЗПИТВАНЕТО

МЕЖДУ ИЗПИТВАНЕТО

Проба	N	$\bar{X} \pm S.D.$ ng/ml	CV (%)	Проба	N	$\bar{X} \pm S.D.$ ng/ml	CV (%)
A	10	$19,4 \pm 0,5$	2,6	A	15	$20,3 \pm 0,7$	3,5
B	10	$63,1 \pm 1,5$	2,4	B	15	$63,6 \pm 2,4$	3,7

D. Точност

ВЪЗСТАНОВИТЕЛЕН ТЕСТ

Проба	Добавен PRL (ng/ml)	Възстановен PRL (ng/ml)	Възстановяване (%)
1	63 78,1 104,7 112,7	59,7 80,7 102,4 117,3	94,7 103,3 97,7 104,1
2	63 78,1 104,7 112,7	58,0 75,7 101,3 112,1	92,0 96,9 96,7 99,5

ТЕСТ С РАЗРЕЖДАНЕ

Проба	Разреждане	Теоретична концентрация (ng/ml)	Измерена концентрация (ng/ml)
1	1/1 1/2 1/4 1/8	- 75,7 37,9 18,9	151,5 81,6 38,5 16,7
2	1/1 1/2 1/4 1/8 1/16	- 91,7 45,8 22,9 11,5	183,4 104,1 47,9 22,4 10,1

Пробите са били разредени с нулев калибратор.

E. Закъснение

Както е показано по-долу, резултатите от изпитването остават точни дори когато пробата е разпределена 60 минути след като калибраторът е бил добавен към покритата епруветка.

	0' (ng/ml)	15' (ng/ml)	30' (ng/ml)	60' (ng/ml)
Проба 1	19,5	20,2	21,3	20,4
Проба 2	67,4	65,2	64,3	63,4

F. Ефект на кукичката

Серумна проба с концентрация 16000 ng/ml PRL дава сигнал, надминаващ най-високата концентрация на калибратора.

Диапазон на измерване: 1,26 (LoQ) до 16000 ng / ml (Ефект на кукичката)

XIV. ОГРАНИЧЕНИЯ

- Проби от пациенти, които са приели препарати от миши моноклонални антитела за диагностика или лечение, могат да съдържат човешки анти-миши антитела (HAMA). Тези проби могат да покажат или фалшиво повишени, или намалени стойности, когато се тестват с китове, които използват миши моноклонални антитела.

- Хетерофилните антитела в човешкия serum могат да реагират с реагентните имуноглобулини, смущавайки ин витро имунотестовете.
- Пациенти, рутинно изложени на животни или на продукти от животински serum, могат да бъдат предразположени към тези смущения и могат да се наблюдават аномални стойности в случаи на наличие на хетерофилни антитела. Внимателно преценявайте резултатите на пациенти, за които има подозрения, че имат от тези антитела.

Ако резултатите не са съвместими с други клинични наблюдения, ще се изиска допълнителна информация преди поставяне на диагноза.

XV. ВЪТРЕШЕН КАЧЕСТВЕН КОНТРОЛ

- Ако резултатите, получени за Контрола 1 и/или Контрола 2 не са в рамките на нивото, указано на етикета на флакона, то резултатите не могат да бъдат използвани, освен ако не се предостави задоволително обяснение на това несъответствие.
- По желание, всяка лаборатория може да си направи собствен комплект от контролни пробы, които трябва да се съхраняват замразени в кратни сътношения.
- Критериите за приемане на разликата от двойните резултати на пробите трябва да се опират на Добрата Лабораторна Практика.

XVI. РЕФЕРЕНТИННИ ИНТЕРВАЛИ

Стойностите, показани по-долу, са предоставени само за напътствие; всяка лаборатория трябва да установи свои собствен нормален обхват на стойности.

Концентрациите на PRL бяха измерени в serumни пробы, взети от различни категории здрави индивиди.

Идентификация	Брой обекти	Средно (ng/ml)	Обхват (2,5-97,5 процентила) (ng/ml)
Мъжките	40	8,5	3,0 – 18,8
Жени (18-60 години)	31	9,2	3,0 – 16,5
Жени (над 60 години)	37	7,2	3,8 – 18,1

XVII. ПРЕДПАЗНИ МЕРКИ И ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ

Безопасност

Само за *in vitro* диагностика.

Този набор съдържа ^{125}I (полужivot: 60 дни), еmitиращ йонизиращи X (28 keV) и γ (35,5 keV) лъчения.

Този радиоактивен продукт може да се пренася и да се използва само от оторизирани лица; покупката, съхранението, употребата и размяната на радиоактивни продукти са предмет на законодателството на държавата, на крайния потребител. Този продукт не бива в никакъв случай да се прилага на хора или животни.

Боравенето с радиоактивния продукт трябва да се извърши в определена за целта територия, далеч от регуляри зони на преминаване. В лабораторията трябва да се поддържа дневник за получаването и съхранението на радиоактивни материали. Лабораторната екипировка и стъклария, които могат да бъдат контаминирани с радиоактивни субстанции, трябва да бъдат отделени с цел да се избегне кръстосана контаминация с различни радиоизотопи.

Всякакви радиоактивни пръски трябва да се почистват незабавно в съответствие с процедурите за радиационна безопасност. Радиоактивните отпадъци трябва да се изхвърлят, следвайки местните наредби и ръководства на властите, упражняващи юрисдикцията, над лабораториите. Придържането към основните правила за радиационна безопасност осигуряват адекватна защита.

Човешките кръвни компоненти, включени в кита, са били тествани чрез одобрени от Европейски и/или FDA (Американска агенция по храните и лекарствата) методи и са дали отрицателен резултат за HbsAg, анти-HCV, анти-HIV-1 и 2. Няма известен метод, който да дава пълна гаранция за това, че човешките кръвни деривати не пренасят хепатит, СПИН или други инфекции. Ето защо, боравенето със реагентите, serumните или плазмените пробы трябва да бъде в съответствие с местните процедури по безопасност.

Всички животински продукти и деривати са били събираны от здрави животни. Волските компоненти са с произход от страни, където BSE (волска serumна енцефалопатия) не е била установявана. Независимо от това, компонентите, съдържащи животински субстанции трябва да се третират като потенциално инфекционни.

Избягвайте какъвто и да било кожен контакт с реагентите (съдържат натриев азид като консервант). Азидът в този кит може да реагира с оловото и медта във водопроводните инсталации като по този начин се получават силно експлозивни метални азиди. По време на измивния етап, промийте със сила и обилен струя вода канализацията, за да избегнете формирането на азиди.

Не пушете, не пийте, не яжте и не си слагайте козметика в работната територия. Не пипетирайте с уста. Използвайте защитно облекло и ръкавици за еднократна употреба.

XVIII. БИБЛИОГРАФИЯ

1. ARCHER D.F. (1977). *Current concepts of prolactin physiology in normal and abnormal conditions.* *Fertil Steril* 28:125.
2. LAUFER N., BOTERO-RUIZ W., DE CHEMEY A.H., ET AL. (1984). *Gonadotropin and prolactin levels in follicular fluid of human ova successfully fertilized in vitro.* *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 58:430.
3. LEONG D.A., FRAWLEY L.S., NEIL J.D. (1983). *Neuroendocrine control of prolactin secretion.* *An. Rev. of Physiol.* 45:109.
4. SEPPALA M. (1978). *Prolactin and female reproduction.* *An. Clin. Res.* 10:164.
5. TAYLOR T.J., TROUSON A, BESANKO M., BURGER H.G., STOCKDALE J. (1986). *Plasma progesterone and prolactin changes in superovulated women before, during and immediately after laparoscopy for in vitro fertilisation and their relation to pregnancy* *Fertil. Steril* 45:680.
6. TYSON J.E. (1980) *Changing role of placental lactogen and prolactin in human gestation.* *Clin. Obstet.Gynecol* 23:737.
7. KAMEL M.A ET AL (1994) *Comparison between prolactin, gonadotropins and steroid hormones in serum and follicular fluid after stimulation with gonadotrophin-releasing hormone agonist and human menopausal gonadotrophin for an in-vitro fertilization program.* *Hum. Reprod.* 9(10):1803-6.
8. PATEL D.D. ET AL (1994). *Plasma prolactin in patients with colorectal cancer. Value in follow-up and as a prognosticator* *Cancer* 73(3):570-74.
9. HATTORI ET AL (1994). *Effects of anti-prolactin autoantibodies on serum prolactin measurements.* *Eur. J. Endocrinol.* 130(5):434-7.
10. Suh H.K. et al (1974). *Size heterogeneity of human Prolactin in plasma and pituitary extracts.* *J. Clin. Endocrinol Metab* 39 : 928-935.
11. Bonhoff A. et al (1995) *Identification of macroprolactin in a patient with asymptomatic hyperprolactinemia as a stable PRL-IgG complex.* *Exp. Clin. Endocrinol.* 103 : 252-5

XIX. ОБОБЩЕНИЕ НА ПРОТОКОЛА

	ОБЩА АКТИВНОСТ ml	КАЛИБРАТОРИ ml	ПРОБА (И) КОНТРОЛИ ml
Калибратори (0-6)	-	0,025	-
Проби Трейсър	0,200	0,200	0,025 0,200
Инкубация	2 часа при стайна температура (18-25°C)		
Сепарация	-	аспирirайте (или прелейте) 2 ml	
Измиващ разтвор	-		
Сепарация	-	аспирirайте (или прелейте)	
Броене	Отчетете епруветките за 60 секунди		

DIAsource PRL-IRMA

I. 제품개요

번호	항 목	내 용
1	품목명	혈중임신·출산호르몬및단백질검사시약
2	제품명	DIAsourc PRL-IRMA
3	허가번호	체외수인 15-274 호
4	사용목적	사람의 혈청 내 프로락チン의 정량측정
5	포장단위	96 테스트/키트
6	저장방법	2~8°C, 제조일로부터 63일 (9주)
7	사용기한	2~8°C, 제조일로부터 63일 (9주)

II. 측정원리

DIAsource PRL-IRMA는 피복-시험관 분리법에 기초한 면역방사계수측정법이다. 포획 항체인 Mabs1은 플라스틱 시험관의 아래쪽 내부에 부착되어 있다. 시험관에 첨가된 표준용액과 검체는 처음에는 Mabs1에 대해 낮은 친화도를 보인다. ^{125}I 로 표지된 signal 항체인 Mab2의 첨가는 system을 완성하고 면역학적 반응을 유발한다. 세척 후, 시험관에 부착된 잔여 방사능은 항원 농도를 반영한다. 몇 개의 서로 다른 Mabs를 사용하는 것은 과특이도를 방지한다.

III. 제공되는 시약

번호	명칭	구성	Color Code	재구성
1	Coated tubes	2 X 48	Orange	즉시 사용 가능
2	Tracer Anti PRL- ^{125}I	1 vial, 22ml	Red	즉시 사용 가능
3	Calibrator 0	1 vial, 동결건조	Yellow	증류수 2ml 첨가
4	Calibrators 1-5	5 vials, 동결건조	Yellow	증류수 0.5ml 첨가
5	Wash Solution	1 vial, 10ml	Brown	증류수로 70배 희석 (자력교반기 사용)
6	Control I, II	2 vials, 동결건조	Silver	증류수 0.5ml 첨가

IV. 측정방법

1. 검체 준비

- (1) 혈청 및 혈장은 2~8°C에 보관한다.
- (2) 측정이 24시간 이내에 이루어지지 않는다면 검체는 -20°C에 냉동 보관해야 한다.
- (3) 검체의 반복적인 냉동/해동은 피한다.
- (4) 지방질 샘플을 사용하지 마십시오.
- (5) 혈청 및 혈장(EDTA/헤파린)으로 비슷한 결과값이 나온다.
 $Y(\text{hep. plasma}) = 0.90 \times (\text{serum}) + 0.06 \quad r = 0.98, n = 19$
 $Y(\text{EDTA plasma}) = 0.91 \times (\text{serum}) + 0.46 \quad r = 0.99, n = 19$

2. 시약조제

- (1) 표준용액: 표준용액 0번은 2ml의 증류수를 첨가하여 재구성하고 나머지 표준용액은 0.5ml의 증류수를 첨가하여 재구성한다.
- (2) 정도관리 용액: 0.5ml의 증류수를 첨가하여 재구성한다.
- (3) 세척용액: 증류수로 70배 희석한다. 균질화하기 위해 자력교반기를 이용한다.
3. 검사방법 (*자동화 장비 : Stratec SR300)
 - (1) 각 calibrator, control, 그리고 검체를 위한 코팅된 시험관을 2개씩 준비하여 라벨을 부착한다. Total count는 2개의 일반 시험관을 준비한다.
 - (2) 간단히 calibrators, 검체 및 control를 vortex 한 후, 25ul씩 준비하여 각 시험관에 분주한다.
 - (3) Total count를 포함한 모든 시험관에 tracer 200ul씩 분주한다.
 - (4) 시험관 랙을 손으로 부드럽게 흔들어 모든 기포를 제거한다.
 - (5) 실온에 2시간 동안 반응시킨다.
 - (6) Total count를 제외한 모든 시험관의 내용물을 흡입하여 제거한다.
 흡입기의 끝 부분이 바닥에 닿아서 모든 액체가 제거 될 수 있도록 한다.
 - (7) Total count를 제외한 모든 시험관을 희석된 (70배) 2ml의 세척용액으로 세척한다. 세척된 세척용액을 첨가 할 때 거품이 생기지 않도록 한다.

- (8) Total count를 제외한 모든 시험관의 내용물을 흡입하여 제거한다.
- (9) 세척 단계 후 약 2분 동안 시험관을 똑바로 세우고 남은 액체를 모두 흡입하여 제거한다.

[체외진단이료기기]

(10) 60초 동안 Gamma counter로 cpm을 측정한다.

4. 결과 산출

(1) 자료정리

- ① 두 번 측정한 값의 평균값을 구한다.
- ② 각 표준용액의 cpm(세로좌표)에 해당되는 PRL의 농도(가로좌표)로 표준곡선을 그린다. 이상치는 제외한다.
- ③ 각 control 및 검체의 농도는 보간법으로 표준곡선에서 읽는다.
- ④ 자동으로 계산할 경우 4-Parameter Logistic Function 곡선적합(curve fitting)을 권장한다.

(2) 참고치

구분	대상자 수	평균 (ng/ml)	범위 (ng/ml)
수컷	40	8.5	3.0 – 18.8
여성 (18-60 세)	31	9.2	3.0 – 16.5
여성 (60 세 이상)	37	7.2	3.8 – 18.1

V. 원제품 시험규격

1. 외관검사

제조원의 품질관리표준지침서(문서번호 POCQ075)에 따라 시험하고, 확인양식(문서번호 FTPK004)에 기입하고 확인한다.

- (1) 문서번호 ITPKKIP1441에 기입된 대로 구성품이 일치하는지 확인한다
- (2) 제품 구성표의 lot와 키트안의 구성품이 일치하는지 확인
- (3) 구성품과 키트의 유효기간을 확인
- (4) 구성품의 라벨상태를 확인
- (5) 구성품의 포장상태를 확인(용량, 물질 등)
- (6) 서류가 맞게 있는지 확인(사용설명서, 품질서류 등)
- (7) 박스에 라벨이 정확히 부착되어 있는지 확인
- (8) 검사 후 담당자는 확인양식(FTP K004)에 기입하고 서명한다.

2. 성능시험

제조원의 품질관리 표준지침서(문서번호 POCQ006)에 따라 시험한다.

- (1) 총 계수는 허용범위 (140,000-180,000 cpm) 내에 있어야 한다
- (2) 표준용액 0의 결합률은 허용범위내에 있어야 한다($\text{na} = 0.25\%$)
- (3) 표준용액 1의 결합률은 허용범위내에 있어야 한다 ($0.87-1.43\%$)
- (4) 표준용액 5의 결합률은 허용범위내에 있어야 한다 ($22.87-43.19\%$)
- (5) 키트 정도관리용액에서 얻어진 값이 허용범위 내에 있어야 한다
 control I : 14-26 ng/ml
 control II : 35-65 ng/ml
- (6) 표준물질은 허용범위 내에 있어야 한다
 Calibrator 1 : 2.1-3.9 ng/ml
 Calibrator 2 : 7-13 ng/ml
 Calibrator 3 : 21-39 ng/ml
 Calibrator 4 : 70-130 ng/ml
 Calibrator 5 : 140-260 ng/ml
 비고 : 각 로트의 허용범위는 방사면역 측정을 위한 표준지침서 (문서번호 CACQKIP1441)에 기록되어 있다.
 (허용범위는 평균값의 $\pm 3\text{SD}$ 를 기준으로 측정된다)

VI. 사용시 주의사항

1. 체외진단으로만 사용하여야 하며, 체외진단용 이외 흡입이나 체내 투여 등을 금지한다.

2. 동 제품에 포함된 방사성동위원소 취급 시 다음 사항을 준수하여야 한다.

- (1) 방사성동위원소는 지정된 장소에 보관하며, 관련 법령에 따라 자격을 갖춘자가 지정된 장소에서 사용한다.
- (2) 방사성동위원소를 취급할 때 안전에 영향을 주는 불필요한 행동을 하지 않는다. (예, 음식 섭취, 흡연, 화장 등)
- (3) 방사성동위원소를 포함한 시약을 분주해야 하는 경우, 입으로 파이펫팅 하지 않는다.
- (4) 방사성동위원소를 취급할 때에는 장갑 및 실험복을 착용하며, 검사가 완료되면 손을 깨끗이 닦는다.

- (5) 유출된 모든 물질은 즉시 닦아 낸 후 폐기 또는 취급에 관련된 소관 법령에 따라 처리하여야 하며, 방사성 물질의 오염이나 방사성 물질 등의 분실은 관련 법령에 정한 규정된 절차에 따라 처리한다.

3. 검사를 실시하기 전에 모든 제품(구성품 포함)은 해당 제품별 검사 온도 조건에 따라 실시한다.

4. 그밖에 방사성동위원소의 보관, 이동, 사용 및 폐기 등 취급에 관한 사항은 관련 법규 또는 규정에 따른다.

5. 본 kit 내의 혈액성분은 시험을 거쳤고, HbsAg, 항HIV 1와 항 HIV 2에 대한

[체외진단이료기기] DIAsource PRL-IRMA

반응은 없었다. 알려져 있는 어떠한 방법으로도 간염 , AIDS, 감염성혈액 성분 같은 감염성 물질의 부재를 확신시킬 수 없다 그러므로 시약과 환자 검체의 취급은 병원내의 안전절차에 따라야 한다.

6. 시약이 피부에 접촉되지 않게 하라(요오드화나트륨 방부제). 본 kit 내의 요오드화합물은 배관계통의 납과 구리와 반응하여 큰 폭발성을 가진 요오드화금속으로 변화할 수 있다. 세척 단계에서 요오드화합물의 생성을 막기 위해 흐르는 물로 배수관을 씻어 내도록 한다.
7. 방사성물질의 취득과 저장에 대한 일지는 실험실 내에 보관되어야 한다. 방사성 물질로 오염될 수 있는 서로 다른 방사성물질에 의한 교차 오염을 예방하기 위해 실험실 기구와 유리제품은 서로 분리 되어져야 한다.
8. 방사성 물질이 쏟아진 경우에는 방사선안전 절차에 따라 즉시 제염하여야 한다. 방사성 폐기물은 특정 규정과 실험실의 관할권을 가지고 있는 신고당국의 지침에 따라 처리되어 야만 한다. 방사선안전에 대한 기본 규칙의 준수는 충분한 방호를 제공한다.