



# PRL-ELISA

***KAPD1291***



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

---

Version : 230718

# History

---

## Summary of change :

<b>Previous Version :</b>	<b>Current Version :</b>
200528	230718
Old DiaSource logo	New DiaSource logo on the front page



# PRL ELISA

en

KAPD1291

IN VITRO DIAGNOSTIC USE

DIAsource ImmunoAssays SA-Rue du Bosquet 2, B-1348 Louvain-la-Neuve, Belgium-Tel: +32 10 84 99 11-Fax : +32 10 84 99 90

## 1 INTRODUCTION

### 1.1 Intended Use

The DIAsource Prolactin ELISA is an enzyme immunoassay for the quantitative *in vitro diagnostic* measurement of Prolactin in serum.

### 1.2 Summary and Explanation

Human prolactin (lactogenic hormone) is secreted from the anterior pituitary gland in both men and women (1). Human prolactin is a single chain polypeptide hormone with a molecular weight of approximately 23.000 daltons (2). The release and synthesis of prolactin is under neuroendocrin control, primarily through Prolactin Releasing Factor and Prolactin Inhibiting Factor (3).

Women normally have slightly higher basal prolactin levels than men; apparently, there is an estrogen- related rise at puberty and a corresponding decrease at menopause. The primary functions of prolactin are to initiate breast development and to maintain lactation. Prolactin also suppresses gonadal function (4,5).

During pregnancy, prolactin levels increase progressively to between 10 and 20 times normal values, declining to non-pregnant levels by 3-4 weeks post- partum (4). Breast feeding mothers maintain high levels of prolactin, and it may take several months for serum concentrations to return to non-pregnant levels (3,4).

The determination of prolactin concentration is helpful in diagnosing hypothalamic- pituitary disorders (3,4). Microadenomas (small pituitary tumors) may cause hyperprolactinemia, which is sometimes associated with male impotence (6). High prolactin levels are commonly associated with galactorrhea and amenorrhea.

Prolactin concentrations have been shown to be increased by estrogens, thyrotropin- releasing hormone (TRH), and several drugs affecting dopaminergic mechanisms (7,8,9,10). Prolactin levels are elevated in renal disease and hypothyroidism, and in some situations of stress, exercise, and hypoglycemia. Additionally, the release of prolactin is episodic and demonstrates diurnal variation (11). Mildly elevated prolactin concentrations should be evaluated taking these considerations into account. Prolactin concentrations may also be increased by drugs such as chloropromazine and reserpine, and may be lowered by bromocryptine and L-dopa (12).

The DIAsource Prolactin ELISA provides a rapid, sensitive, and a reliable assay. The antibodies developed for the test will determine a minimal concentration of human prolactin of 0.35 ng/mL. There is no cross-reactivity with hCG, TSH, LH, FSH, or hGH.

## 2 PRINCIPLE OF TEST

The DIAsource Prolactin ELISA Kit is a solid phase enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) based on the sandwich principle.

The microtiter wells are coated with a monoclonal [mouse] antibody directed towards a unique antigenic site on a Prolactin molecule. An aliquot of patient sample containing endogenous Prolactin is incubated in the coated well with enzyme conjugate, which is an anti-Prolactin antibody conjugated with horseradish peroxidase. After incubation the unbound conjugate is washed off.

The amount of bound peroxidase is proportional to the concentration of Prolactin in the sample.

Having added the substrate solution, the intensity of colour developed is proportional to the concentration of Prolactin in the patient sample.

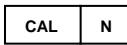
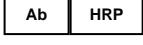
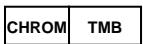
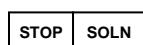
## 3 WARNINGS AND PRECAUTIONS

1. This kit is for in vitro diagnostic use only. For professional use only.
2. All reagents of this test kit which contain human serum or plasma have been tested and confirmed negative for HIV I/II, HBsAg and HCV by FDA approved procedures. All reagents, however, should be treated as potential biohazards in use and for disposal.
3. Before starting the assay, read the instructions completely and carefully. Use the valid version of the package insert provided with the kit. Be sure that everything is understood.
4. The microplate contains snap-off strips. Unused wells must be stored at 2 °C to 8 °C in the sealed foil pouch and used in the frame provided.
5. Pipetting of samples and reagents must be done as quickly as possible and in the same sequence for each step.
6. Use reservoirs only for single reagents. This especially applies to the substrate reservoirs. Using a reservoir for dispensing a substrate solution that had previously been used for the conjugate solution may turn solution colored. Do not pour reagents back into vials as reagent contamination may occur.
7. Mix the contents of the microplate wells thoroughly to ensure good test results. Do not reuse microwells.
8. Do not let wells dry during assay; add reagents immediately after completing the rinsing steps.
9. Allow the reagents to reach room temperature (21-26°C) before starting the test. Temperature will affect the absorbance readings of the assay. However, values for the patient samples will not be affected.
10. Never pipet by mouth and avoid contact of reagents and specimens with skin and mucous membranes.
11. Do not smoke, eat, drink or apply cosmetics in areas where specimens or kit reagents are handled.
12. Wear disposable latex gloves when handling specimens and reagents. Microbial contamination of reagents or specimens may give false results.
13. Handling should be done in accordance with the procedures defined by an appropriate national biohazard safety guideline or regulation.
14. Do not use reagents beyond expiry date as shown on the kit labels.
15. All indicated volumes have to be performed according to the protocol. Optimal test results are only obtained when using calibrated pipettes and microtiterplate readers.
16. Do not mix or use components from kits with different lot numbers. It is advised not to exchange wells of different plates even of the same lot. The kits may have been shipped or stored under different conditions and the binding characteristics of the plates may result slightly different.

17. Avoid contact with *Stop Solution* containing 0.5 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. It may cause skin irritation and burns.
18. Some reagents contain Proclin 300, BND and/or MIT as preservatives. In case of contact with eyes or skin, flush immediately with water.
19. TMB substrate has an irritant effect on skin and mucosa. In case of possible contact, wash eyes with an abundant volume of water and skin with soap and abundant water. Wash contaminated objects before reusing them. If inhaled, take the person to open air.
20. Chemicals and prepared or used reagents have to be treated as hazardous waste according to the national biohazard safety guideline or regulation.
21. For information on hazardous substances included in the kit please refer to Material Safety Data Sheets. Material Safety Data Sheets for this product are available upon request directly from DIAsource.

## 4 REAGENTS

### 4.1 Reagents provided

1.  **Microtiterplates**, 12 x 8 (break apart) strips, 96 wells.  
Wells coated with anti-Prolactin monoclonal antibody.
2.  **Prolatin Calibrators**. N= 0 to 5, 6 vials (lyophilized), 1 mL  
Concentrations : 0 ; 5; 20; 50; 100 ; 200 ng/mL  
Conversion : 1 ng/mL = 21.1 mIU/L  
*The calibrators are calibrated against WHO 3<sup>d</sup> International Calibrator for Prolactin IRP (84/500)*  
See "Preparation of Reagents"  
Contain non-mercury preservative.
3.  **Enzyme Conjugate**, 1 vial, 11 mL. Ready to use.  
Anti-Prolactin antibody conjugated to horseradish peroxidase.  
Contain non-mercury preservative.
4.  **Substrate Solution**, 1 vial, 14 mL. Ready to use.  
Tetramethylbenzidine (TMB)
5.  **Stop Solution**, 1 vial, 14 mL. Ready to use.  
Contains 0.5 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.  
Avoid contact with the stop solution. It may cause skin irritations and burns.

**Note:** Additional *Calibrator 0* for sample dilution is available on request.

### 4.2 Material required but not provided

- A microtiter plate calibrated reader (450±10 nm)
- Calibrated variable precision micropipettes.
- Absorbent paper.
- Aqua dest.
- Timer
- Semi logarithmic graph paper or software for data reduction

### 4.3 Storage Conditions

When stored at 2 °C - 8 °C unopened reagents will retain reactivity until expiration date. Do not use reagents beyond this date. Opened reagents must be stored at 2 °C - 8 °C. Microtiter wells must be stored at 2 °C - 8 °C. Once the foil bag has been opened, care should be taken to close it tightly again. Opened kits retain activity for two months if stored as described above.

### 4.4 Reagents Preparation

Bring all reagents and required number of strips to room temperature prior to use

#### Calibrators

Reconstitute the lyophilized contents of the calibrator vial with 1 mL Aqua dest.

**Note:** The reconstituted calibrators are stable for 2 months at 2 °C - 8 °C. For longer storage freeze at -20°C.

### 4.5 Disposal of the Kit

The disposal of the kit must be made according to the national regulations. Special information for this product is given in the Material Safety Data Sheets.

### 4.6 Damaged Test Kits

In case of any severe damage to the test kit or components, DIAsource has to be informed in writing, at the latest, one week after receiving the kit. Severely damaged single components should not be used for a test run. They have to be stored until a final solution has been found. After this, they should be disposed according to the official regulations.

## **5 SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION**

Only serum should be used in this assay.

(The use of EDTA- or Heparin samples may lead to increased values while the use of citrate plasma may lead to decreased values.)

Do not use haemolytic, icteric or lipaemic specimens.

Please note: Samples containing sodium azide should not be used in the assay.

### **5.1 Specimen Collection**

#### **Serum:**

Collect blood by venipuncture (e.g. Sarstedt Monovette for serum), allow to clot, and separate serum by centrifugation at room temperature. Do not centrifuge before complete clotting has occurred. Patients receiving anticoagulant therapy may require increased clotting time.

### **5.2 Specimen Storage and Preparation**

Specimens should be capped and may be stored for up to 5 days at 2 °C - 8 °C prior to assaying.

Specimens held for a longer time should be frozen only once at -20°C prior to assay. Thawed samples should be inverted several times prior to testing.

### **5.3 Specimen Dilution**

If in an initial assay, a specimen is found to contain more than the highest calibrator, the specimens can be diluted with *Calibrator 0* and reassayed as described in Assay Procedure.

For the calculation of the concentrations this dilution factor has to be taken into account.

#### **Example:**

- a) dilution 1:10: 10 µL Serum + 90 µL *Calibrator 0* (mix thoroughly)
- b) dilution 1:100: 10 µL dilution a) 1:10 + 90 µL *Calibrator 0* (mix thoroughly).

## **6 ASSAY PROCEDURE**

### **6.1 General Remarks**

- All reagents and specimens must be allowed to come to room temperature before use. All reagents must be mixed without foaming.
- Once the test has been started, all steps should be completed without interruption.
- Use new disposal plastic pipette tips for each calibrator, control or sample in order to avoid cross contamination
- Absorbance is a function of the incubation time and temperature. Before starting the assay, it is recommended that all reagents are ready, caps removed, all needed wells secured in holder, etc. This will ensure equal elapsed time for each pipetting step without interruption.
- As a general rule the enzymatic reaction is linearly proportional to time and temperature.
- Pipetting of all calibrators, samples, and controls should be completed within 6 minutes. (Note this especially for manual pipetting.)

### **6.2 Test Procedure**

Each run must include a calibration curve.

1. Secure the desired number of Microtiter wells in the holder.
  2. Dispense **25 µL** of each *Calibrator*, *Control* and samples with new disposable tips into appropriate wells.
  3. Dispense **100 µL** *Enzyme Conjugate* into each well.  
Thoroughly mix for 10 seconds. It is important to have a complete mixing in this step.
  4. Incubate for **30 minutes** at room temperature.
  5. Briskly shake out the contents of the wells.  
Rinse the wells 5 times with distilled water (300 µL per well). Strike the wells sharply on absorbent paper to remove residual droplets.
- Important note:**  
The sensitivity and precision of this assay is markedly influenced by the correct performance of the washing procedure!
6. Add **100 µL** of *Substrate Solution* to each well.
  7. Incubate for **10 minutes** at room temperature.
  8. Stop the enzymatic reaction by adding **50 µL** of *Stop Solution* to each well.
  9. Determine the absorbance (OD) of each well at **450 ± 10 nm** with a microtiter plate reader.  
It is recommended that the wells be read **within 10 minutes** after adding the *Stop Solution*.

## **6.3 Calculation of Results**

1. Calculate the average absorbance values for each set of calibrators, controls and patient samples.
2. Using semi-logarithmic graph paper, construct a calibration curve by plotting the mean absorbance obtained from each calibrator against its concentration with absorbance value on the vertical(Y) axis and concentration on the horizontal (X) axis.
3. Using the mean absorbance value for each sample determine the corresponding concentration from the calibration curve.
4. Automated method: The results in the Instructions for Use have been calculated automatically using a 4 Parameter curve fit. (4 Parameter Rodbard or 4 Parameter Marquardt are the preferred methods.) Other data reduction functions may give slightly different results.
5. The concentration of the samples can be read directly from this calibration curve. Samples with concentrations higher than that of the highest calibrator have to be further diluted or reported as > 200 ng/mL. For the calculation of the concentrations this dilution factor has to be taken into account.

### **6.3.1 Example of Typical Calibration Curve**

The following data is for demonstration only and **cannot** be used in place of data generations at the time of assay.

Calibrator	Optical Units (450 nm)
Calibrator 0 (0 ng/mL)	0.04
Calibrator 1 (5 ng/mL)	0.13
Calibrator 2 (20 ng/mL)	0.40
Calibrator 3 (50 ng/mL)	0.80
Calibrator 4 (100 ng/mL)	1.34
Calibrator 5 (200 ng/mL)	1.92

## **7 EXPECTED NORMAL VALUES**

It is strongly recommended that each laboratory should determine its own normal and abnormal values.

In a study conducted with apparently normal healthy adults, using the DIAsource Prolactin ELISA the following values are observed:

Population	Mean (ng/mL)	S.D. (ng/mL)	5% Percentile (ng/mL)	95% Percentile (ng/mL)
Males	6.44	5.50	0.94	20.94
Females	14.27	5.88	2.39	25.15

The results alone should not be the only reason for any therapeutic consequences. The results should be correlated to other clinical observations and diagnostic tests.

## **8 QUALITY CONTROL**

Good laboratory practice requires that controls be run with each calibration curve. A statistically significant number of controls should be assayed to establish mean values and acceptable ranges to assure proper performance.

It is recommended to use control samples according to state and federal regulations. The use of control samples is advised to assure the day to day validity of results. Use controls at both normal and pathological levels.

The controls and the corresponding results of the QC-Laboratory are stated in the QC certificate added to the kit. The values and ranges stated on the QC sheet always refer to the current kit lot and should be used for direct comparison of the results.

It is also recommended to make use of national or international Quality Assessment programs in order to ensure the accuracy of the results.

Employ appropriate statistical methods for analysing control values and trends. If the results of the assay do not fit to the established acceptable ranges of control materials patient results should be considered invalid.

In this case, please check the following technical areas: Pipetting and timing devices; photometer, expiration dates of reagents, storage and incubation conditions, aspiration and washing methods.

After checking the above mentioned items without finding any error contact your distributor or DIAsource directly.

## **9 PERFORMANCE CHARACTERISTICS**

### **9.1 Assay Dynamic Range**

The range of the assay is between 0.35 – 200 ng/mL.

### **9.2 Specificity of Antibodies (Cross Reactivity)**

The following substances were tested for cross reactivity of the assay:

Hormone Tested	Concentration	Produced Color Intensity Equivalent to Prolactin in Serum(ng/mL)
hCG (WHO 1 <sup>st</sup> IRP 75/537)	62,500 mIU/mL	0
	125,000 mIU/mL	0
	250,000 mIU/mL	0
	500,000 mIU/mL	0
TSH (WHO 2 <sup>nd</sup> IRP 80/558)	250 µIU/mL	0
	500 µIU/mL	0
LH (WHO 1 <sup>st</sup> IRP 68/40)	500 mIU/mL	0
	1000 mIU/mL	0
FSH (WHO 2 <sup>nd</sup> IRP-HMG)	250 mIU/mL	0
	500 mIU/mL	0
hGH (WHO 1 <sup>st</sup> IRP 66/217)	1000 µg/mL	2.5

### **9.3 Sensitivity**

The analytical sensitivity of the DiaSource ELISA was calculated by adding 2 standard deviations to the mean of 20 replicate analyses of *Calibrator 0* and was found to be 0.35 ng/mL.

### **9.4 Reproducibility**

#### **9.4.1 Intra Assay**

The within assay variability is shown below:

Sample	1	2	3
Mean (ng/mL)	6.16	14.10	32.48
SD (ng/mL)	0.28	0.41	1.91
CV (%)	4.58	2.91	5.87
n =	10	10	10

#### **9.4.2 Inter Assay**

The between assay variability is shown below:

Sample	1	2	3
Mean (ng/mL)	5.96	12.64	25.99
SD (ng/mL)	0.37	0.71	1.53
CV (%)	6.22	5.64	5.90
n =	12	12	12

## 9.5 Recovery

Samples have been spiked by adding Prolactin solutions with known concentrations in a 1:1 ratio.

The % Recovery has been calculated by multiplication of the ratio of the measurements and the expected values with 100.

Sample	Endogenous Prolactin ng/mL	Added Prolactin ng/mL	Measured Conc. Prolactin ng/mL	Expected * Prolactin ng/mL	Recovery (%)
1 Serum	8.4	0.0	8.4		
		10.0	13.8	14.2	97.4
		25.0	29.9	29.2	102.6
		50.0	51.5	54.2	95.1
		100.0	90.0	104.2	86.4
2 Serum	20.0	0.0	20.0		
		10.0	22.0	20.0	110.2
		25.0	34.3	35.0	98.1
		50.0	52.2	60.0	87.0
		100.0	94.9	110.0	86.3
3 Serum	31.8	0.0	31.8		
		10.0	26.2	25.9	101.3
		25.0	40.4	40.9	98.7
		50.0	58.3	65.9	88.4
		100.0	103.7	115.9	89.4

(\* Endogenous Prolactin / 2 + added Prolactin because of a 1:1 dilution of serum with spike material.)

## 9.6 Linearity

Sample	Dilution	Measured Conc. (ng/mL)	Expected Conc. (ng/mL)	Recovery (%)
1	None	8.40	8.38	
	1:2	4.22	4.19	100.8
	1:4	1.98	2.09	94.4
	1:8	1.15	1.05	109.9
	1:16	0.58	0.52	111.0
2	None	20.0	19.96	
	1:2	10.74	9.98	107.6
	1:4	5.56	4.99	111.4
	1:8	2.75	2.49	110.2
	1:16	1.28	1.25	102.2
3	None	31.80	31.81	
	1:2	14.35	15.91	90.2
	1:4	6.95	7.95	87.4
	1:8	3.55	3.98	89.2
	1:16	1.76	1.99	88.7

## 10 LIMITATIONS OF USE

Reliable and reproducible results will be obtained when the assay procedure is performed with a complete understanding of the package insert instruction and with adherence to good laboratory practice.

Any improper handling of samples or modification of this test might influence the results.

### 10.1 Interfering Substances

Haemoglobin (up to 4 mg/mL), Bilirubin (up to 0.5 mg/mL) and Triglyceride (up to 0.9 mg/mL) have no influence on the assay results.

### 10.2 Drug Interferences

Until today no substances (drugs) are known to us, which have an influence to the measurement of Prolactin in a sample.

### 10.3 High-Dose-Hook Effect

No hook effect was observed in this test up to 2000 ng/mL of Prolactin.

## **11 LEGAL ASPECTS**

### **11.1 Reliability of Results**

The test must be performed exactly as per the manufacturer's instructions for use. Moreover the user must strictly adhere to the rules of GLP (Good Laboratory Practice) or other applicable national calibrators and/or laws. This is especially relevant for the use of control reagents. It is important to always include, within the test procedure, a sufficient number of controls for validating the accuracy and precision of the test.

The test results are valid only if all controls are within the specified ranges and if all other test parameters are also within the given assay specifications. In case of any doubt or concern please contact DIAsource.

### **11.2 Therapeutic Consequences**

Therapeutic consequences should never be based on laboratory results alone even if all test results are in agreement with the items as stated under point 11.1. Any laboratory result is only a part of the total clinical picture of a patient.

Only in cases where the laboratory results are in acceptable agreement with the overall clinical picture of the patient should therapeutic consequences be derived.

The test result itself should never be the sole determinant for deriving any therapeutic consequences.

### **11.3 Liability**

Any modification of the test kit and/or exchange or mixture of any components of different lots from one test kit to another could negatively affect the intended results and validity of the overall test. Such modification and/or exchanges invalidate any claim for replacement.

Claims submitted due to customer misinterpretation of laboratory results subject to point 11.2. are also invalid. Regardless, in the event of any claim, the manufacturer's liability is not to exceed the value of the test kit. Any damage caused to the test kit during transportation is not subject to the liability of the manufacturer.

## **12 REFERENCES**

1. Shome, B. and Parlow, A.F., J. Clin. Endocrinol. Metab., 45, 1112-1115, (1977).
2. Niall, M.D. et al, "The Chemistry of Growth Hormone and the Lactogenic Hormones"; Recent Progr. Horm. Res. 29, 471 (1974)
3. Friesen, H. and Hwang, P., Ann. Rev. Medecine, 24, 251-270, (1973)
4. Cowden, E.A., Ratcliffe, W.A., Beastall, G.H., and Ratcliffe, J.G., Annals Clin. Biochem., 16, 113-121, (1979).
5. Frantz, A.G., N. Engl. J. Med., 298, 201-207 (1978)
6. Thorner, M.O., Edwards, C.R.W., Hanker, J.P., Abraham, G., and Besser, G.M., "The Testes in Normal and Infertile Men", Troen, P. and Nankin, H.R. (eds.), Raven Press, New York, 351-366, (1977).
7. Daughday, W.H., "The Adenohypophysis, Textbook of Endocrinology"; Williams, 6th Ed., Chapter 3, 87-87, (1981)
8. Tyson, J.E., Hwang, P., Guyela, H. Friesen, H.G., Am. J. Obstet. Gynecol. 113, 14-20, (1972).
9. Aubert, M.I., Grumbach, M.M. and Kaplan, S.L., Acta Endocrin. 77, 460-476 (1974)
10. Jacobs, L., Snyder, P., Wilber, J., Utiger, R., and Daughday, W., J. Clin. Endocrin. 33, 996, (1978).
11. Frantz, A.G., N. Engl. J., Med., 298, 201-207, (1978).
12. Cowden, E.A., Ratcliffe, W.A., Beastall, G.H., and Ratcliffe, J.G., Annals Clin. Biochem., 16, 113-121, (1979).
13. Engvall, E., "Methods in Enzymology", Volume 70, Van Vunakis, H. and Langone, J.J. (eds.), Academic Press, New York, NY, 419-492, (1980).
14. Uotila, M., Ruouslahti, E. and Engvall, E., J. Immunol. Methods, 42, 11-15, (1981).

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

Revision date : 2023-07-18



# PRL ELISA

KAPD1291  
IN VITRO DIAGNOSTIC USE

fr

DIAsource ImmunoAssays SA-Rue du Bosquet 2, B-1348 Louvain-la-Neuve, Belgium-Tel: +32 10 84 99 11-Fax : +32 10 84 99 90

## 1 INTRODUCTION

Le kit de dosage immuno-enzymatique **DIAsource Prolactin ELISA** propose le matériel requis pour la mesure quantitative de prolactine dans le sérum.

**Ce kit est à utiliser uniquement dans le cadre de tests diagnostiques in vitro.**

## 2 PRINCIPE DU TEST

Le kit DIAsource Prolactin ELISA est basé sur une réaction immuno-enzymatique en sandwich en phase solide. Les microplaques sont recouvertes avec un anticorps monoclonal dirigé contre un antigène spécifique de la molécule de Prolactine. Une aliquote de l'échantillon contenant la Prolactine endogène est incubé dans un puits avec l'enzyme conjuguée, c'est-à-dire un anticorps anti-Prolactine conjugué avec de la peroxydase de Raifort (horseradish peroxidase, HRP). Après l'incubation, le conjugué non-lié est éliminé durant le lavage des puits.

La quantité de conjugué-HRP liée est proportionnelle à la concentration de Prolactine contenue dans l'échantillon.

Suite à l'addition de solution de substrat, l'intensité de la coloration obtenue est proportionnelle à la concentration de Prolactine contenu dans l'échantillon.

## 3 PRECAUTIONS D'UTILISATION

- Ce kit est uniquement destiné aux tests diagnostiques in vitro.
- Les informations concernant la toxicité des réactifs contenus dans ce kit sont présentées dans la fiche de sécurité (« Material Safety Data Sheets »).
- Tous les réactifs de ce kit contenant du sérum ou du plasma humain ont été testés avec des résultats négatifs pour le VIH I/II, HBsAg et HCV selon les normes FDA en vigueur. Néanmoins, lors de leur utilisation, tous les réactifs de ce kit doivent être manipulés avec précaution.
- Eviter les contacts avec la *Stop Solution*, celle-ci contient 0.5 M de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Cela pourrait engendrer irritations ou brûlures de la peau.
- Ne jamais pipeter avec la bouche, et éviter tout contact de la peau ou des muqueuses avec les réactifs ou les échantillons.
- Ne pas fumer, manger, boire ou utiliser des produits cosmétiques dans les zones où les échantillons ou le kit ont été maniés.
- Porter des gants d'examen lors de l'utilisation des échantillons ou des réactifs. Une contamination microbienne des échantillons ou des réactifs pourrait fausser les résultats.
- L'utilisation de ce kit devra être en accord avec les normes ou recommandations nationales de sécurité en vigueur concernant les produits à risque biologique.
- Ne pas utiliser les réactifs au-delà de la date d'expiration inscrite sur l'emballage.
- Tous les volumes indiqués doivent être scrupuleusement respectés, comme indiqué dans le protocole expérimental. Seule l'utilisation de pipettes calibrées ou d'un spectrophotomètre lecteur de microplaques calibré garantit l'obtention de résultats optimaux à ce test.
- Ne pas mélanger ou utiliser des réactifs contenus dans des kits de lots différents. Il est conseillé de ne pas échanger les puits de différentes plaques, même si celles-ci proviennent du même lot. Les kits peuvent avoir été transportés ou stockés différemment, et les caractéristiques de liaison de chaque plaque pourraient ainsi être modifiées.
- L'élimination des solutions chimiques et des réactifs contenus dans ce kit, utilisés ou non, doit être en accord avec la réglementation nationale en vigueur concernant l'élimination des déchets à risque biologique.
- La fiche de sécurité concernant ce produit peut être obtenue en contactant directement DIAsource.

## 4 COMPOSITION DU KIT

### 4.1 Contenu du kit

1. **Plaque de micro-titration**, 12 x 8 barrettes (à détacher), 96 puits.  
Les puits sont recouverts avec un anticorps anti-Prolactine (monoclonal).
2. **Calibrateurs**. N= 0 à 5, 6 flacons (lyophilisés), 1 mL  
Concentrations : 0 ; 5; 20; 50; 100 ; 200 ng/mL  
Conversion : 1 ng/mL = 21.1 mIU/L  
*Les calibrateurs ont été calibrés selon le WHO 3rd International Standard for Prolactin IRP (84/500.)*  
Contient agent de conservation sans mercure.
3. **Enzyme Conjuguée**, 1 flacon, 11 mL. Prêt à l'emploi.  
Anticorps anti-prolactine conjugué à la peroxydase de raifort.  
Contient un conservateur sans mercure

4. CHROM TMB

**Solution de Substrat**, 1 flacon, 14 mL. Prêt à l'emploi.  
Tétramethylbenzidine (TMB)

5. STOP SOLN

**Solution Stop**, 1 flacon, 14 mL. Prêt à l'emploi.  
contient 0.5 M de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.  
Eviter les contacts avec la Solution Stop. Cela pourrait engendrer irritations ou brûlures de la peau.

**Remarque :** Des *Calibrateurs 0* supplémentaires peuvent être fournis sur demande.

#### 4.2 Equipment et matériel requis, mais non fournis

- Un spectrophotomètre lecteur de microplaques calibré (450±10 nm).
- Des micropipettes de précision variables et calibrées.
- Du papier absorbant.
- De l'eau distillée.

#### 4.3 Stockage et stabilité du kit

Les réactifs contenus dans des flacons non-ouverts, stockés à 2 °C - 8 °C, seront stables jusqu'à la date d'expiration inscrite sur l'étiquette. Ne pas utiliser les réactifs au-delà de cette date.

Les réactifs contenus dans des flacons ouverts doivent être stockés à 2 °C - 8 °C. Les microplaques doivent être stockées à 2 °C - 8 °C. Une fois le sachet d'aluminium ouvert, attention à le refermer complètement après emploi.

Les kits ouverts conservent leur activité durant deux mois s'ils sont stockés comme précédemment mentionné.

#### 4.4 Préparation des réactifs

Amener tous les réactifs et le nombre de barrettes nécessaires au test à température ambiante avant utilisation.

##### **Calibrateurs**

Reconstituer le contenu lyophilisé des flacons de calibrateurs avec 1 mL d'eau distillée.

*Remarque : Les calibrateurs reconstitués sont stables deux mois à 2 °C - 8 °C.  
Pour un stockage prolongé, congeler à -20°C.*

#### 4.5 Elimination des déchets relatifs au kit

L'élimination des déchets relatifs au kit doit être réalisée selon les règles nationales en vigueur. Les informations spécifiques au kit sont présentées dans la fiche de sécurité (voir chapitre 3).

#### 4.6 Kits endommagés

Dans le cas de dommages importants survenus au kit ou ses composants, informer DIAsource, au plus tard une semaine après réception du kit. Les composants endommagés ne doivent pas être utilisés pour le test. Ils doivent être stockés jusqu'à ce qu'une solution adaptée ait été trouvée. Après cela, ils doivent être éliminés selon les directives officielles en vigueur.

### 5 ECHANTILLON

Seul du sérum doit être utilisé dans le cadre de ce test.

(Le plasma citrate engendre une diminution des valeurs, l'EDTA et Héparine engendre lui une augmentation des valeurs.)

Ne pas utiliser des échantillons hémolysés, ictériques ou lipémiques.

*Remarque : Les échantillons contenant de l'azide de sodium ne doivent pas être utilisés pour ce test.*

#### 5.1 Prélèvement et préparation des échantillons

##### **Sérum:**

Prélever le sang par ponction veineuse (ex. Sarstedt Monovette pour sérum), laisser coaguler, puis séparer le sérum par centrifugation à température ambiante. Ne pas centrifuger avant que la coagulation ne soit terminée. Les patients sous traitement anti-coagulant peuvent demander un temps de coagulation plus important.

#### 5.2 Conservation des échantillons

Les tubes contenant les échantillons doivent être fermés et peuvent être stockés jusqu'à cinq jours à 2 °C - 8 °C avant d'être testés.

Les échantillons stockés pour un temps prolongé doivent être congelés à -20 °C avant d'être testés. Les échantillons décongelés doivent être retournés plusieurs fois avant le test.

#### 5.3 Dilution de l'échantillon

Si, lors d'un test préliminaire, la concentration de l'échantillon se révèle être supérieure à celle du calibrateur le plus concentré, alors l'échantillon doit être dilué avec le *Calibrateur 0* et testé de nouveau, comme décrit dans "Réalisation du test".

Pour le calcul des concentrations, ce facteur de dilution doit être pris en considération.

##### Exemple:

- a) dilution 1:10: 10 µL Sérum + 90 µL *Calibrateur 0* (bien mélanger).
- b) dilution 1:100: 10 µL dilution a) 1:10 + 90 µL *Calibrateur 0* (bien mélanger).

### 6 RÉALISATION DU TEST

#### 6.1 Remarques générales

- Tous les réactifs et échantillons doivent être amenés à température ambiante avant utilisation. Tous les réactifs doivent être mélangés, sans formation de mousse.

- Une fois la procédure engagée, toutes les étapes doivent être réalisées sans interruption.
- Utiliser un nouvel embout de pipette pour chaque calibrateur, contrôle ou échantillon, ceci afin d'éviter toute contamination.
- L'absorbance est fonction du temps d'incubation et de la température. Avant de commencer le test, il est recommandé de préparer tous les réactifs, bouchons ouverts, de préparer les puits des microplaques, etc. Cela garantira un intervalle de temps équivalent entre chaque étape, sans interruption.
- En règle générale, la réaction enzymatique est linéairement proportionnelle au temps et à la température.
- Le pipetage de tous les calibrateurs, échantillons et contrôles doit être réalisé en 6 minutes. (A noter spécialement dans le cadre d'un pipetage manuel).

## 6.2 Réalisation du dosage

Chaque test doit inclure une courbe de calibration.

1. Disposer le nombre de puits de micro-titration désiré dans le support.
  2. Déposer **25 µL** de chaque *Calibrateur, Contrôle* et échantillon, avec de nouveaux embouts de pipette, dans les puits appropriés.
  3. Déposer **100 µL** d'*Enzyme Conjuguée* dans chaque puits.  
Bien mélanger pendant 10 secondes. Il est important d'obtenir un mélange parfait lors de cette étape.
  4. Incuber pendant **30 minutes** à température ambiante.
  5. Décanter le contenu des puits et rincer les puits **5 fois** avec de l'eau distillée (400 µL par puits). Tapoter les puits sur du papier absorbant afin d'éliminer les gouttelettes résiduelles.
- Remarque importante:**  
La sensibilité et la précision de ce test sont fortement dépendantes de la bonne réalisation des étapes de lavage !
6. Ajouter **100 µL** de *Solution de Substrat* à chaque puits.
  7. Incuber pendant **10 minutes** à température ambiante.
  8. Stopper la réaction enzymatique en ajoutant **50 µL** de *Solution Stop* à chaque puits.
  9. Lire la densité optique à **450±10 nm** à l'aide d'un spectrophotomètre lecteur de microplaques **dans les 10 minutes** après avoir ajouté la *Stop Solution*.

## 6.3 Calcul des résultats

1. Calculer les valeurs moyennes des densités optiques pour chaque série de calibrateurs, contrôles et échantillons.
2. Etablir la courbe de calibration en reportant la densité optique moyenne mesurée pour chaque calibrateur en fonction de leur concentration, en posant la densité optique en axe des ordonnées et la concentration en axe des abscisses.
3. L'utilisation de la densité optique moyenne pour chaque échantillon détermine la concentration correspondante à partir de la courbe de calibration.
4. Méthode automatique. Les résultats dans les instructions d'utilisation ont été calculés de façon automatique en utilisant une courbe de régression 4 Paramètres. (4 paramètres Rodbard ou 4 paramètres Marquardt sont les méthodes favorites.) D'autres fonctions logistiques peuvent donner des résultats légèrement différents.
5. La concentration des échantillons peut être lue directement à partir de cette courbe de calibration. Les échantillons avec une concentration supérieure à celle du plus haut calibrateur doivent être dilués de nouveau. Pour le calcul des concentrations, ce facteur de dilution doit être pris en considération.

### 6.3.1 Exemple typique de courbe de calibration

Les résultats suivants sont ici présentés à titre d'exemple et **ne peuvent** être utilisés au moment de l'essai.

Calibrateur	Unités optiques (450 nm)
Calibrateur 0 (0 ng/mL)	0.04
Calibrateur 1 (5 ng/mL)	0.13
Calibrateur 2 (20 ng/mL)	0.40
Calibrateur 3 (50 ng/mL)	0.80
Calibrateur 4 (100 ng/mL)	1.34
Calibrateur 5 (200 ng/mL)	1.92

## 7 VALEURS ATTENDUES

Il est fortement recommandé à chaque laboratoire de déterminer ses propres valeurs normales ou anormales.

Dans une étude réalisée avec des adultes normaux et sains, à l'aide du kit DIAsource Prolactin ELISA, les valeurs suivantes sont observées :

Population	Signifie (ng/mL)	S.D. (ng/mL)	5% Pourcentage (ng/mL)	95% Pourcentage (ng/mL)
Hommes	6,44	5,50	0,94	20,94
Femmes	14,27	5,88	2,39	25,15

## **8 CONTROLE DE QUALITÉ**

Il est recommandé d'utiliser des échantillons contrôles selon les réglementations nationales en vigueur. L'utilisation des échantillons contrôles est recommandée afin de s'assurer jour après jour de la validité des résultats. Utiliser des contrôles de valeurs normales et pathologiques.

Les contrôles et les résultats correspondants issus du laboratoire QC sont mentionnés dans le certificat QC. Les valeurs et les limites mentionnées sur la fiche QC font toujours référence au lot de kit courant et doivent être utilisées pour une comparaison directe avec les résultats.

Il est également recommandé d'utiliser des programmes d'évaluation de qualité nationaux ou internationaux, afin de s'assurer de l'exactitude des résultats.

Utiliser les méthodes d'analyses statistiques appropriées pour l'analyse des valeurs contrôles et des tendances. Si les résultats ne correspondent pas aux limites établies des contrôles, les résultats concernant ces patients doivent être considérés comme non valides. Dans ce cas, revoir les techniques suivantes : mécanisme de pipetage et temps; spectrophotomètre, dates d'expiration des réactifs, conditions de stockage et d'incubation, méthodes d'aspiration et de lavage.

Après avoir testé les points mentionnés ci-dessus, si aucune erreur n'est détectée, contacter votre distributeur ou directement DIAsource.

## **9 CARACTERISTIQUES DU TEST**

### **9.1 Zone de mesure**

Les limites du dosage sont comprises entre 0,35 – 200 ng/mL.

### **9.2 Spécificité des anticorps (Réaction croisée)**

Voir le manuel d'utilisateur en version anglaise.

### **9.3 Sensibilité de l'analyse**

La sensibilité de l'analyse a été calculée à partir de la moyenne la plus élevée de deux déviations standards de l'analyse de vingt réplicats du *Calibrateur 0* et a été mesurée à 0,35 ng/mL.

### **9.4 Reproducibility**

Voir le manuel de l'utilisateur en version anglaise.

### **9.5 Recovery**

Voir le manuel de l'utilisateur en version anglaise.

### **9.6 Linéarité**

Voir le manuel de l'utilisateur en version anglaise.

## **10 LIMITES D'UTILISATION**

Toute utilisation impropre des échantillons ou toute modification du test peut influencer les résultats.

### **10.1 Substances interférentes**

L'hémoglobine (jusqu'à 4 mg/mL), la bilirubine (jusqu'à 0,5 mg/mL) et les triglycérides (jusqu'à 0,9 mg/mL) n'ont aucune influence sur les résultats du dosage.

### **10.2 Effet de surdosage**

Jusqu'à 2000 ng/mL de Prolactine, aucun effet de surdosage n'a été détecté avec ce test.

## **11 ASPECTS LEGAUX**

### **11.1 Fiabilité des résultats**

Ce test doit être exactement utilisé selon les instructions d'utilisation du fabricant. De plus, les utilisateurs doivent strictement respecter les règles de la bonne pratique de laboratoire, ou autres lois nationales. Cela est spécialement le cas pour l'utilisation des réactifs contrôles. Pour chaque test, il est important d'inclure un nombre suffisant de contrôles, afin de pouvoir valider l'exactitude et la précision du test.

Les résultats du test sont valides si et seulement si tous les contrôles sont compris dans les gammes de mesure mentionnées et si tous les autres paramètres du test sont également compris dans les instructions de ce test. En cas de doute ou d'inquiétude, contacter DIAsource.

### **11.2 Conséquences thérapeutiques**

Les suites thérapeutiques ne devront jamais être basées sur les résultats de laboratoire seuls, même si les tous les résultats du test sont en accord avec les points mentionnés dans le paragraphe 11.1. Tout résultat n'est qu'une partie du tableau clinique complet d'un patient.

Les suites thérapeutiques peuvent découler des résultats de laboratoire si et seulement si ceux-ci sont en accord avec l'ensemble du tableau clinique du patient.

Le résultat du test en lui-même ne doit en aucun cas être le seul déterminant des suites thérapeutiques à suivre.

### **11.3 Responsabilité**

Toute modification du kit et/ou échange et/ou mélange d'un des composants de différents lots, d'un kit à un autre, pourrait affecter de façon négative les résultats attendus et la validité du test dans son ensemble. De telles modifications ou échanges invalident toute réclamation pour un remplacement.

Toutes les réclamations soumises, relatives au paragraphe 11.2, et dues à une mauvaise interprétation des résultats de laboratoire de la part du client sont également invalides. Néanmoins, en cas de réclamation, la responsabilité du fabricant n'est pas de dépasser les limites de la valeur du kit. Tout dommage causé au kit lors de son transport n'est pas du ressort de la responsabilité du fabricant.

### **12 REFERENCES**

Voir le manuel de l'utilisateur en version anglaise.

Revision date : 2023-07-18



# PRL ELISA

IT

KAPD1291

IN VITRO DIAGNOSTIC USE

DIAsource ImmunoAssays SA-Rue du Bosquet 2, B-1348 Louvain-la-Neuve, Belgium-Tel: +32 10 84 99 11-Fax : +32 10 84 99 90

## 1 INTRODUZIONE

### 1.1 Destinazione d'uso

Il test immuno-enzimatico DIAsource Prolactin ELISA contiene materiale per la determinazione quantitativa di prolattina in siero. Questo test kit è adatto soltanto per l'uso diagnostico.

### 1.2 Riassunto e spiegazione

La prolattina umana (ormone lattogeno) è secreta dalla ghiandola pituitaria (ipofisi) anteriore sia nell'uomo che nella donna (1). La prolattina umana è un ormone polipeptidico a catena singola di peso molecolare pari a circa 23.000 Dalton (2). Il rilascio e la sintesi della prolattina sono sotto il controllo neuroendocrino, principalmente tramite il fattore di rilascio della prolattina e il fattore inibente la prolattina (3).

Le donne normalmente presentano livelli basali di prolattina leggermente superiori rispetto agli uomini; apparentemente, si ha un aumento correlato agli estrogeni al momento della pubertà e una corrispondente diminuzione nella menopausa. Tra le funzioni primarie della prolattina vi sono l'induzione dello sviluppo mammario e il mantenimento della lattazione. La prolattina sopprime inoltre la funzione gonadica (4,5).

Durante la gravidanza, i livelli di prolattina aumentano progressivamente fino a raggiungere 10–20 volte i valori normali, per tornare ai livelli pre-gravidanza entro 3–4 settimane dal parto (4). Nelle donne che allattano, i livelli di prolattina si mantengono elevati e possono essere necessari molti mesi prima che la concentrazione sierica ritorni ai livelli pre-gravidanza (3,4).

La determinazione della concentrazione di prolattina è utile nella diagnosi dei disturbi ipotalamo-ipofisari (3,4). I microadenomi (piccoli tumori ipofisari) possono causare iperprolattinemia, talvolta associata a impotenza maschile (6). Livelli elevati di prolattina sono comunemente associati a galattorrea e amenorrea.

È stato osservato che la concentrazione di prolattina viene aumentata dagli estrogeni, dall'ormone di rilascio della tireotropina (TRH) e da molti dei farmaci che influiscono sui meccanismi dopaminergici (7,8,9,10). Livelli elevati di prolattina si riscontrano nelle patologie renali e nell'ipotiroidismo, nonché in alcune situazioni di stress, esercizio fisico e ipoglicemia. Il rilascio di prolattina è episodico e soggetto a variazione diurna (11). Concentrazioni di prolattina lievemente elevate vanno analizzate tenendo in considerazione quanto sopra. La concentrazione di prolattina può aumentare in seguito all'assunzione di farmaci come clorpromazina o reserpina oppure diminuire in seguito all'assunzione di bromocriptina o L-dopa (12).

Il test DIAsource ImmunoAssays Prolactin ELISA costituisce un'analisi rapida, sensibile e affidabile. Gli anticorpi sviluppati per il test permettono di rilevare concentrazioni minime di prolattina di 0,35 ng/mL. Inoltre il test non presenta reattività incrociata con hCG, TSH, LH, FSH o hGH.

## 2 PRINCIPIO DEL TEST

Il test kit DIAsource Prolactin ELISA è un test immunologico in fase solida con enzimi ancorati su un substrato (ELISA) basato sul principio sandwich.

I micropozzetti sono ricoperti con un anticorpo monoclonale diretto contro un unico sito antigenico su una molecola prolattina. Un'aliquota di un campione di paziente contenente prolattina endogena viene incubato nel pozzetto ricoperto dell'enzima coniugato, che è un anticorpo anti-prolattina monoclonale coniugato alla perossidasi di rafano. Dopo l'incubazione il coniugato non legato è eliminato attraverso lavaggi.

La quantità della perossidasi legata è proporzionale alla concentrazione prolattina nel campione.

Dopo l'aggiunta della soluzione substrato l'intensità del colore sviluppato è proporzionale alla concentrazione di prolattina nel campione del paziente.

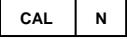
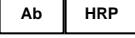
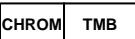
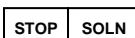
## 3 PRECAUZIONI

- Questo kit è solo per uso diagnostico in vitro ed esclusivamente per uso professionale.
- Tutti i reagenti di questo kit di analisi contenenti siero o plasma umano sono stati analizzati mediante procedure approvate dalla FDA e sono risultati negativi per HIV I/II, HBsAg e HCV. Tuttavia tutti i reagenti vanno utilizzati e smaltiti come potenziali materiali a rischio biologico.
- Prima di iniziare l'analisi, leggere le istruzioni attentamente e fino alla fine. Utilizzare la versione valida delle istruzioni per l'uso fornita insieme al kit. Accertarsi che sia tutto chiaro.
- La micropiastra contiene strisce staccabili. I pozzetti non utilizzati vanno conservati a 2-8 °C nella busta laminata sigillata e usati entro il periodo indicato.
- La pipettatura di campioni e reagenti va eseguita il più rapidamente possibile e nella stessa sequenza in ogni fase.
- Per ogni singolo reagente va usato un contenitore diverso. Ciò vale in particolare per i contenitori del substrato. Se un contenitore già usato in precedenza con la soluzione del coniugato viene utilizzato per erogare una soluzione di substrato, la soluzione può colorarsi. Non rimettere i reagenti nei flaconi poiché si può verificare una contaminazione.
- Miscelare bene il contenuto dei pozzetti della micropiastra per garantire la buona riuscita del test. I micropozzetti non vanno riutilizzati.
- Non lasciare asciugare i pozzetti durante l'analisi; i reagenti vanno aggiunti subito dopo aver completato le fasi di risciacquo.
- Prima di iniziare il test, portare i reagenti a temperatura ambiente (21-26 °C). La temperatura influenza sulle letture dell'assorbanza previste dall'analisi. Tuttavia, la temperatura non influenza sui valori dei campioni dei pazienti.
- Non pipettare mai con la bocca ed evitare il contatto dei reagenti e dei campioni con la cute e le membrane mucose.
- Non fumare, mangiare, bere né usare cosmetici nelle aree in cui vengono manipolati i campioni o i reagenti del kit.

12. Quando si manipolano i campioni e i reagenti, indossare sempre guanti di lattice monouso. La contaminazione microbica dei reagenti o dei campioni può portare a risultati errati.
13. La manipolazione va eseguita in conformità con le procedure definite nelle linee guida o nelle normative nazionali in merito alla sicurezza nell'uso di materiali a rischio biologico.
14. Non utilizzare i reagenti oltre la data di scadenza impressa sulle etichette del kit.
15. Tutti i volumi indicati devono essere preparati seguendo il protocollo. L'ottimale riuscita del test si ottiene solo usando pipette e lettori di piastre per microtitolo correttamente tarati.
16. Non miscelare né usare componenti di kit con numero di lotto diverso. Si raccomanda di non scambiare i pozzetti di piastre diverse, nemmeno se appartenenti allo stesso lotto. I kit potrebbero essere stati spediti o conservati in condizioni diverse e le caratteristiche di legame della piastre possono risultare leggermente differenti.
17. Evitare il contatto con la Soluzione di blocco contenente H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,5 M. Può causare irritazione cutanea e ustioni.
18. Alcuni reagenti contengono Proclin 300, BND e/o MIT come conservanti. In caso di contatto con occhi o cute, risciacquare abbondantemente con acqua.
19. Il substrato TMB ha un effetto irritante sulla cute e sulle mucose. In caso di contatto, lavare gli occhi con molta acqua e la cute con sapone e molta acqua. Lavare gli oggetti contaminati prima di riutilizzarli. Se inalato, accompagnare la persona all'aria aperta.
20. I composti chimici e i reagenti preparati o usati vanno trattati come rifiuti pericolosi secondo le linee guida o le normative nazionali in merito alla sicurezza nell'uso di materiali a rischio biologico.
21. Per informazioni sulle sostanze pericolose incluse nel kit consultare le rispettive schede tecniche di sicurezza dei materiali, disponibili su richiesta inoltrata direttamente a DiaSource ImmunoAssays.

## 4 COMPONENTI DEL KIT

### 4.1 Contenuto del kit

1.  **Microtiterwells** (Micropozzetti), 12 x 8 file (separatamente staccabili), 96 pozzetti.  
Pozzetti ricoperti con l'anti-prolattina anticorpo (monoclonale)
  2.  **PRL Calibratori** N= 0 to 5, 6 flaconi (iopolillizzati), 1 mL  
Concentrazione : 0; 5; 20; 50; 100 ; 200 ng/mL  
Conversione : 1 ng/mL = 21.1 mIU/L  
*Gli calibratore sono calibrati contro lo Calibratore Internazionale WHO 3<sup>rd</sup> per prolattina IRP (84/500)*  
Vedi "preparazione dei reagenti".  
Contiene conservante senza mercurio.
  3.  **Enzyme Conjugate** (Tracciante enzimatico), 1 flacone, 11 mL, pronto all'uso  
Anti-prolattina anticorpo conjugato alla perossidasi di rafano  
Contiene conservante senza mercurio.
  4.  **Substrate Solution** (Soluzione di substrato), 1 flacone, 14 mL, pronto all'uso.  
TMB (benzidine tetrametilico)
  5.  **Stop Solution** (Soluzione d'arresto), 1 flacone, 14 mL, pronto all'uso.  
Contiene 0.5 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.  
Evitare il contatto con la soluzione d'arresto. Può causare irritazioni cutanee e ustioni.
- \* BND = 5-bromo-5-nitro-1,3-dioxane  
MIT = 2-methyl-2H-isothiazol-3-one

**Nota:** Ulteriore Calibratore 0 per la diluizione dei campioni può essere richiesto alla ditta.

### 4.2 Materiali richiesti ma non contenuti nel kit

- Uno spettrofotometro calibrato per micropozzetti (450±10 nm)
- Micropipette calibrate di precisione a volume variabile.
- Carta assorbente.
- Acqua distillata.

### 4.3 Magazzinaggio e stabilità del kit

A 2 °C - 8 °C i reagenti non aperti rimangono reattivi fino alla data di scadenza indicata. Non usare reagenti oltre questa data. Tutti i reagenti aperti devono essere magazzinati a 2 °C - 8 °C. I micropozzetti devono essere magazzinati a 2 °C - 8 °C. Una volta aperti i pacchi, questi devono essere richiusi accuratamente. Test kits aperti rimangono attivi per due mesi se magazzinati alle condizioni sopra descritte.

#### **4.4 Preparazione dei reagenti**

Prima dell'uso portare tutti i reagenti e il numero necessario di pozzetti a temperatura ambiente.

##### **Calibratori**

Ricostituire il contenuto liofillizzato dei flaconi con gli calibratore con 1 mL acqua distillata.

**Nota:** Gli calibratore ricostituiti sono stabili per 2 mesi a 2 °C - 8 °C. Per periodi piu' lunghi congelare a -20 °C.

#### **4.5 Smaltimento del kit**

Lo smaltimento del kit deve avvenire secondo le regole a norma di legge. Informazioni particolareggiate per questo prodotto si trovano nel regolamento di sicurezza, capitolo 13.

#### **4.6 Test kits danneggiati**

Nel caso di gravi danneggiamenti del kit o dei suoi componenti deve avvenire una dichiarazione scritta alla ditta DIAsource, al piu' tardi una settimana dopo il ricevimento del kit. Componenti danneggiati non dovrebbero essere utilizzati per il test. Questi componenti devono essere magazzinati fino alla soluzione del problema. Dopo di che essi devono essere smaltiti secondo le norme ufficiali.

### **5 CAMPIONI**

#### **Nel test deve essere utilizzato solo siero.**

I risultati Citrate Plasma sono diminuiti, mentre del EDTA e Heparin sono molto aumentati.

Non usare campioni emolitici, itterici o lipemici.

Attenzione: Se i campioni contengono sodio azide non devono essere utilizzati per questo test.

#### **5.1 Collezione dei campioni**

##### **Siero:**

Collezionare sangue tramite puntura venale (p.es. Sarstedt Monovette per siero), far coagulare e separare il siero centrifugando a temperatura ambiente.

Non centrifugare prima che la coagulazione sia completata. Campioni di pazienti con una terapia anticoagulante possono richiedere più tempo per la coagulazione.

#### **5.2 Magazzinaggio dei campioni**

I campioni dovrebbero essere magazzinati ben chiusi fino a 5 giorni a 2 °C - 8 °C.

Campioni magazzinati per un periodo più lungo dovrebbero essere congelati solo una volta a -20 °C prima dell'analisi. Congelare soltanto una volta. Invertire campioni scongelati alcune volte prima dell'uso.

#### **5.3 Diluizione dei campioni**

Se in un campione di siero viene trovata una concentrazione oltre lo calibratore piu' alto, questo campione può essere diluito con lo Calibratore 0 e nuovamente determinato.

Della diluizione deve essere però tenuto conto.

##### **Esempio:**

- a) diluizione 1:10: 10 µL siero + 90 µL Calibratore 0 (agitare bene)
- b) diluizione 1:100: 10 µL della diluizione a) + 90 µL Calibratore 0 (agitare bene).

### **6 ATTUAZIONE DEL TEST**

#### **6.1 Indicazioni generali**

- Tutti i reagenti e i campioni devono essere portati a temperatura ambiente e ben mescolati prima dell'uso. Evitare la formazione di schiume.
- Una volta iniziato il procedimento del test, questo deve essere portato alla fine senza interruzione.
- Per ogni componente, calibratore, controllo o campione è necessario utilizzare una nuova punta monouso per evitare reazioni incrociate.
- La densità ottica dipende dal tempo d'incubazione e dalla temperatura. Perciò si rende necessario di preparare tutti i reagenti, di aprire i tappi dei flaconi e di appostare tutti i pozzetti nelle appropriate posizioni. Soltanto una tale preparazione garantisce gli stessi tempi per ogni processo di pipettamento.
- Come regola generale vale che la reazione enzimatica si svolge linearmente proporzionale con il tempo e con la temperatura.
- Il pipettare degli calibratore, controlli e campioni deve essere eseguito entro 6 minuti. (Fare attenzione soprattutto quando è eseguito manualmente.)

## 6.2 Eseguimento del test

Ogni analisi deve includere una curva calibratore.

1. Fissare i pozetti necessari sul supporto.
2. Pipettare **25 µL** di ogni *Calibratore, Control e campione* nei pozetti, cambiando ogni volta la punta monouso.
3. Pipettare **100 µL Enzyme Conjugate** in ogni pozetto.  
Agitare bene per 10 secondi. È molto importante raggiungere un completo mescolamento.
4. Incubare per **30 minuti** a temperatura ambiente.
5. Rovesciare la piastra per vuotare i pozetti.  
Lavare i pozetti **5 volte** con acqua distillata (400 µL in ogni pozetto). Rimuovere le gocce d'acqua rimanenti rivoltando la piastra su carta assorbente.  
**Importante:**  
La sensibilità e la precisazione di questo kit sono fortemente influenzate dal corretto eseguimento del lavaggio!
6. Aggiungere **100 µL della Substrate Solution** ad ogni pozetto.
7. Incubare per **10 minuti** a temperatura ambiente.
8. Fermare la reazione enzimatica aggiungendo **50 µL della Stop Solution** ad ogni pozetto.
9. Determinare la densità ottica a **450 ± 10 nm** con un fotometro per microtiter-piastre **entro 10 minuti** dopo l'aggiunta della *Stop Solution*.

## 6.3 Rilevamento dei risultati

1. Determinare i valori medi della densità ottica per ogni set di calibratore, controlli e campioni.
2. Costruire una curva calibratore: riportare i valori medi della densità ottica (OD) di ogni calibratore contro la rispettiva concentrazione dove i valori delle OD si devono trovare sull'asse verticale (Y) e le concentrazioni sull'asse orizzontale (X).
3. Utilizzando il valore medio delle OD per ogni campione si determina la rispettiva concentrazione dalla curva calibratore.
4. Metodo automatico: I valori riportati in queste istruzioni per l'uso sono stati determinati tramite l'equazione a 4 parametri.  
(I metodi preferiti sono 4 Parameter Rodbard oppure 4 Parameter Marquardt.)  
Altri funzioni usati per l'elaborazione dei dati possono dare risultati leggermente differenti
5. La concentrazione dei campioni può essere determinata direttamente dalla curva calibratore. Campioni con una concentrazione piu' elevata dello calibratore piu' concentrato devono essere diluiti. Di questo fattore di diluizione deve essere tenuto conto per il calcolo della concentrazione.

### 6.3.1 Esempio di una curva calibratore

I seguenti dati sono a scopo dimostrativo soltanto e **non possono** sostituire i dati generati dall'eseguimento del test.

Calibratore	Densità ottiche (450 nm)
Calibratore 0 (0 ng/mL)	0,04
Calibratore 1 (5 ng/mL)	0,13
Calibratore 2 (20 ng/mL)	0,40
Calibratore 3 (50 ng/mL)	0,80
Calibratore 4 (100 ng/mL)	1,34
Calibratore 5 (200 ng/mL)	1,92

## 7 VALORI NORMALI

È consigliabile che ogni laboratorio determini i propri valori normali e anormali.

In uno studio condotto su persone apparentemente sane usando il test DIAsource Prolactin ELISA i seguenti valori sono stati ottenuti:

Popolazione	Valore medio (ng/mL)	S.D. (ng/mL)	5% Perzentile (ng/mL)	95% Perzentile (ng/mL)
Uomini	6,44	5,50	0,94	20,94
Donne	14,27	5,88	2,39	25,15

## 8 CONTROLLO QUALITÀ

È consigliabile utilizzare i campioni controllo secondo le norme di legge. Attraverso l'utilizzo dei campioni controllo si può raggiungere una verifica dei risultati giorno per giorno. Dovrebbero essere adoperati campioni controllo sia con un livello normale sia con uno patologico.

Le referenze con i rispettivi risultati del laboratorio QC sono elencati nel QC certificato, che è allegato al kit. I valori riportati nel QC certificato si riferiscono al lotto del kit attuale e dovrebbero essere utilizzati per un raffronto dei risultati. È altresì consigliabile di partecipare a programmi di sicurezza sulla qualità nazionali o internazionali, per assicurarsi dell'esattezza dei risultati. Appropriati metodi statistici per l'analisi dei valori controllo e delle rappresentazioni grafici dovrebbero essere adoperati. Nel caso che i risultati del test non combaciano con il campo di accettazione indicato dal materiale di controllo, i risultati dei pazienti devono essere considerati invalidi. In questo caso si prega di controllare i seguenti fattori d'errore: pipette, cronometri, fotometro, data di scadenza dei reagenti, condizione di magazzinaggio e d'incubazione, metodi di aspirazione e di lavaggio.

Se dopo il controllo dei suddetti fattori non è rilevabile alcun errore, si prega di contattare il fornitore o direttamente la ditta DIAsource.

## **9 CARATTERISTICHE DEL TEST**

### **9.1 Assay Dynamic Range**

Le concentrazioni determinabili con questo test stanno tra 0,35 – 200 ng/mL.

### **9.2 Specificità degli anticorpi (reazioni ad incrocio)**

Per dettagli più precisi consultare la metodica in inglese.

### **9.3 Sensitività analitica**

La sensitività analitica è stata calcolata dai valori medi piu' due deviazioni calibratore di venti (20) repliche dello *Calibratore 0* ed erano 0,35 ng/mL.

### **9.4 Precisione**

Per dettagli più precisi consultare la metodica in inglese.

### **9.5 Ritrovato**

Per dettagli più precisi consultare la metodica in inglese.

### **9.6 Linearità**

Per dettagli più precisi consultare la metodica in inglese.

## **10 LIMITAZIONE DEL TEST**

Ogni manutenzione impropria dei campioni o modificazione del protocollo può influenzare i risultati.

### **10.1 Interfering Substances**

Emoglobina (fino a 4 mg/mL), bilirubina (fino a 0,5 mg/mL) e trigliceridi (fino a 0,9 mg/mL) non influenzano i risultati di questo test.

### **10.2 Drug Interferences**

Fino ad oggi nessuna sostanza (farmaco) è conosciuta a noi che abbia influenzato la determinazione di Prolactin nel campione.

### **10.3 High-Dose-Hook Effect**

Nessun effetto hook (di agglomerazione) è stato osservato in questo test fino a 2000 ng/mL di prolattina.

## **11 ASPETTI LEGALI**

### **11.1 Affidabilità dei risultati**

Il test deve essere eseguito esattamente secondo il protocollo dato dal produttore. Inoltre l'utente deve seguire le regole del GLP (Good Laboratory Practice) o eventualmente altre regole comportamentali o disposizioni legali. Questo vale soprattutto per l'uso delle referenze. È molto importante utilizzare un numero appropriato di referenze in parallelo ai campioni test per poter controllare l'esattezza e la precisione del test.

I risultati del test sono validi soltanto se tutte le referenze cadono nei margini prestabiliti e se tutti gli altri parametri del test soddisfano la specificazione per questo test. Se esistono dubbi o domande su questi risultati, si prega di contattare la ditta DiaSource.

### **11.2 Conseguenze terapeutiche**

Soltanto sulla base dei risultati dei laboratori non dovrebbero essere intraprese delle conseguenze terapeutiche di alcun tipo, anche se i risultati del test sono d'accordo con gli aspetti articolati nel punto 11.1. Ogni risultato di laboratorio è soltanto una parte di un quadro clinico completo di un paziente.

Soltanto in casi in cui i risultati di un test del laboratorio si accordano con il quadro clinico dell'ammalato, si possono intraprendere delle conseguenze terapeutiche.

Il risultato del test da solo non è base sufficiente per lo stabilimento di una terapia.

### **11.3 Responsabilità legali**

Ogni cambiamento del protocollo del test e/o lo scambio o il mescolamento di componenti provenienti da cariche diverse possono influenzare negativamente i risultati e compromettere la validità del test. Questi cambiamenti e/o scambi annullano ogni diritto al risarcimento.

Si respingano inoltre tutti i richiami risultanti da interpretazioni sbagliate da parte dell'utente secondo il paragrafo 11.2. Nel caso di reclamazione, la garanzia del produttore è limitato al valore massimo del test kit. Ogni danno provocato durante il trasporto del kit non sottostà alla responsabilità del produttore.

## **12 BIBLIOGRAFIA**

Per dettagli più precisi consultare la metodica in inglese.

Data di revisione : 2023-07-18



# PRL ELISA

es

KAPD1291

IN VITRO DIAGNOSTIC USE

DIAsource ImmunoAssays SA-Rue du Bosquet 2, B-1348 Louvain-la-Neuve, Belgium-Tel: +32 10 84 99 11-Fax : +32 10 84 99 90

## 1 INTRODUCCIÓN

### 1.1 Uso previsto

El Kit de inmunoensayo enzimático DIAsource Prolactin ELISA proporciona los materiales necesarios para la determinación cuantitativa del prolactina en suero .

Este ensayo está diseñado solo para diagnóstico *in vitro*.

### 1.2 Resumen y explicación

La prolactina humana (hormona lactogénica) es una hormona segregada por la glándula pituitaria anterior tanto de hombres como de mujeres (1). La prolactina es una hormona peptídica de cadena única cuyo peso molecular es de aproximadamente 23.000 daltons (2). La liberación y la síntesis de la prolactina están bajo control neuroendocrino, principalmente a través del factor de liberación de prolactina y del factor de inhibición de prolactina (3).

Normalmente, las mujeres tienen unos niveles basales de prolactina ligeramente más altos que los hombres; parece ser que durante la pubertad estos niveles sufren un aumento relacionado con los estrógenos y que durante la menopausia disminuyen de forma equivalente. Las principales funciones de la prolactina son iniciar el desarrollo de las mamas y mantener la lactancia. La prolactina también inhibe la función gonadal (4,5).

Durante el embarazo, los niveles de prolactina aumentan progresivamente hasta entre 10 y 20 veces los valores normales, y a las 3 o 4 semanas del parto, regresan a los valores normales (4). Las madres lactantes mantienen niveles altos de prolactina, y es posible que las concentraciones en suero tarden varios meses en regresar a los niveles normales (3,4).

La determinación de la concentración de prolactina puede ayudar a diagnosticar trastornos hipotálamo-pituitarios (3,4). Los microadenomas (pequeños tumores pituitarios) pueden causar hiperprolactinemia, que en ocasiones conduce a la impotencia masculina (6). Los niveles altos de prolactina normalmente conducen a la galactorrea y la amenorrea.

Se ha demostrado que las concentraciones de prolactina aumentan a causa de los estrógenos, la hormona liberadora de tirotropina (HLT) y varios fármacos que afectan a los mecanismos dopaminérgicos (7,8,9,10). Los niveles de prolactina también aumentan en caso de enfermedad renal e hipotiroidismo, así como en situaciones de estrés, ejercicio excesivo e hipoglucemias. Además, la liberación de prolactina es episódica y muestra variaciones diurnas (11). Las concentraciones ligeramente elevadas de prolactina deben evaluarse teniendo todo esto en cuenta. Las concentraciones de prolactina también pueden aumentar a causa de fármacos como la clorpromazina y la reserpina, y pueden disminuir a causa de la bromocriptina y la levodopa (12).

El ensayo Prolactin ELISA de DIAsource ImmunoAssays es un ensayo rápido, sensible y fiable. Los anticuerpos desarrollados para la prueba determinan una concentración mínima de prolactina humana de 0,35 ng/ml. No existe reacción cruzada con hCG, TSH, LH, FSH o hGH.

## 2 FUNDAMENTO DEL ENSAYO

El Kit DIAsource Prolactin ELISA es un ensayo en fase sólida de inmunoabsorción unido a enzimas (ELISA), basado en el principio del sándwich.

Los pocillos de las placas están recubiertos con un anticuerpo monoclonal dirigido contra un único foco antigenico en una molécula de prolactina. Se incuba una alícuota de una muestra perteneciente a un paciente que contiene prolactina endógena en los pocillos recubiertos con el enzima conjugado, que es un anticuerpo anti-prolactina conjugado con la peroxidasa endógena. Después de la incubación se lava el conjugado que no se ha unido.

La cantidad de peroxidasa unida es proporcional a la concentración de prolactina en la muestra.

Cuando se añade la solución del sustrato de la peroxidasa, la intensidad del color desarrollado es proporcional a la concentración de prolactina en la muestra del paciente.

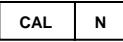
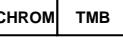
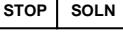
## 3 ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

- Este kit es solo para uso en diagnóstico *in vitro*. Solo para uso profesional.
- Todos los reactivos de esta prueba que contienen suero o plasma humano se han analizado y han dado negativo en VIH I/II, HBsAg y VHC en procedimientos aprobados por la FDA. No obstante, todos los reactivos deben utilizarse y eliminarse como posibles riesgos biológicos.
- Antes de iniciar el ensayo, lea las instrucciones por completo y con atención. Utilice la versión válida de las instrucciones de uso suministradas con el kit. Asegúrese de que lo ha comprendido todo.
- La microplaca contiene tiras separables. Los pocillos no utilizados deben guardarse a una temperatura de entre 2 °C y 8 °C en la bolsa de aluminio sellada y utilizarse en el marco suministrado.
- El pipeteo de las muestras y los reactivos debe realizarse lo más rápido posible y en la misma secuencia para cada paso.
- Utilice los depósitos solo para los reactivos individuales. Esto es especialmente importante en el caso de los depósitos de sustrato. Si se utiliza un depósito para distribuir una solución de sustrato que se ha utilizado anteriormente para la solución de conjugado, la solución puede colorearse. No vierta los reactivos de nuevo en los viales, podría contaminar los reactivos.
- Mezcle el contenido de los pocillos de la microplaca completamente para asegurarse de que los resultados de la prueba salgan bien. No reutilice los pocillos.
- No deje que los pocillos se sequen durante el ensayo; añada reactivos inmediatamente después de finalizar los pasos de enjuagado.
- Antes de iniciar la prueba, deje que los reactivos alcancen la temperatura ambiente (entre 21 °C y 26 °C). La temperatura afecta a las lecturas de absorbancia del ensayo. No obstante, los valores de las muestras del paciente no se ven afectadas.
- Nunca pipetee con la boca; evite el contacto de los reactivos y las muestras con la piel y las membranas mucosas.
- No fume, coma, beba o aplique cosméticos en las zonas de manipulación de las muestras o los reactivos del kit.
- Cuando manipule muestras y reactivos, utilice guantes de látex desechables. La contaminación microbiana de los reactivos o las muestras puede arrojar resultados falsos.
- La manipulación debe realizarse de acuerdo con los procedimientos definidos por las directrices o normativas de seguridad nacionales adecuadas sobre riesgos biológicos.

14. No reutilice los reactivos más allá de la fecha de caducidad indicada en las etiquetas del kit.
15. Los volúmenes indicados deben realizarse de acuerdo con el protocolo. Solo obtendrá resultados óptimos si utiliza pipetas calibradas y lectores de placas microtituladoras.
16. No mezcle ni utilice componentes de kits con diferentes números de lote. Se recomienda no intercambiar los pocillos de placas diferentes, aunque sean del mismo lote. Es posible que los kits se hayan enviado o almacenado en condiciones diferentes y que las características obligatorias de las placas sean ligeramente diferentes.
17. Evite el contacto con la Solución de parada, contiene 0,5 m de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y puede provocar irritación en la piel y quemaduras.
18. Algunos reactivos contienen Proclin 300, BND y/o MIT como conservantes. En caso de contacto con los ojos o la piel, lávelos inmediatamente con agua.
19. El sustrato de TMB tiene un efecto irritante sobre la piel y las mucosas. En caso de contacto, lave los ojos con agua abundante y la piel con agua y jabón abundantes. Antes de reutilizar los objetos contaminados debe lavarlos. En caso de inhalación, lleve a la persona a un lugar descubierto.
20. Las sustancias químicas y los reactivos preparados o utilizados deben tratarse como residuos peligrosos y de acuerdo con las directrices o normativas de seguridad nacionales sobre riesgos biológicos.
21. Para más información sobre las sustancias peligrosas incluidas en el kit, consulte las fichas de seguridad. Puede solicitar las fichas de seguridad de este producto directamente a DIAsource ImmunoAssays.

#### 4 COMPONENTES DEL KIT

##### 4.1 Componentes del Kit

1.  **Microtiterwells** (Placas multipocillo), 12 x 8 tiras separables, 96 pocillos; Pocillos recubiertos con anticuerpo anti-prolactina (monoclonal ).
2.  **Calibrador (Calibrador 0-5)**, 6 viales (liofilizados), 1 mL; Concentraciones: 0; 5; 20; 50; 100; 200 ng/mL; Conversión: 1 ng/mL = 21,1 mIU/L  
Los calibradores están calibrados según WHO 3<sup>rd</sup> International Calibrador para prolactina IRP (84/500). Ver "Preparación de los Reactivos"; Contiene conservante sin mercurio.
3.  **Enzyme Conjugate** (Conjugado enzimático), 1 vial, 11 mL, listo para usar, Anticuerpo anti- prolactina conjugado con la Peroxidasa de rábano; Contiene conservante sin mercurio.
4.  **Substrate Solution** (Solución de sustrato), 1 vial, 14 mL, listo para usar, Tetrametilbencidina (TMB).
5.  **Stop Solution** (Solución de parada), 1 vial, 14 mL, listo para usar, Evitar el contacto con la Solución de parada. Puede causar irritación y quemaduras en al piel.

**Nota:** Se puede solicitar el Calibrador 0 para la dilución de la muestra.

##### 4.2 Equipamiento y material requerido pero no provisto

Lector de microplacas calibrado (450 ± 10 nm) (ej. DIAsource Microtiter Plate Reader).

Micropipetas de precisión variable calibradas.

Papel absorbente.

Agua destilada.

##### 4.3 Almacenamiento y estabilidad del kit

Cuando se almacena a 2 C-8°C, los reactivos sin abrir mantienen su reactividad hasta la fecha de caducidad. No utilizar los reactivos más allá de esta fecha.

Los reactivos abiertos han de almacenarse a 2°C-8°C. Las placas multipocillo han de almacenarse a 2°C-8°C. Una vez se ha abierto la bolsa hay que tener cuidado y cerrarla de nuevo.

Los kits abiertos conservan su actividad durante dos meses si se almacenan como se ha descrito arriba.

##### 4.4 Preparación de los Reactivos

Dejar que todos los reactivos y el número requerido de tiras alcancen la temperatura ambiente antes de usarse.

##### Calibradores

Reconstituir los contenidos liofilizados de los viales de los calibradores con 1 mL de agua destilada y dejar reposar como mínimo durante 10 minutos. Mezclar varias veces antes de usar.

**Nota:** Los calibradores reconstituidos son estables durante 2 meses a 2°C-8°C. Para períodos más largos congelar a -20°C.

##### 4.5 Eliminación del Kit

La eliminación del kit debe realizarse de acuerdo con las leyes nacionales. En las hojas de datos de seguridad se proporciona información especial de este producto (ver capítulo 13).

##### 4.6 Kits de ensayo dañados

En caso de que exista cualquier daño severo del kit de ensayo o de sus componentes, ha de informarse por escrito a DIAsource, no más tarde de una semana después de recibir el kit. No deben utilizarse componentes dañados para llevar a cabo un ensayo. Han de almacenarse hasta que se encuentre una solución. Después de esto, deben ser eliminados de acuerdo con las leyes oficiales.

## 5 MUESTRAS

Sólo debe utilizarse suero en este ensayo.

(El empleo de plasma EDTA- o heparina puede llegar a valores aumentados y el empleo de plasma citrato a valores reducidos.)

No usar muestras hemolíticas, ictericas o lipémicas.

Tener en cuenta: No deben usarse muestras que contengan acida sódica.

### 5.1 Toma de muestras

#### **Suero:**

Recoger la sangre por punción en la vena (ej. Sarstedt Monovette para el suero), permitir coagulación, y separar el suero por centrifugación a temperatura ambiente. No centrifugar antes de la coagulación completa. Las muestras de pacientes que reciben terapia anticoagulante requieren más tiempo para coagular.

### 5.2 Almacenamiento de las muestras

Las muestras deben ser tapadas y pueden ser almacenadas hasta 5 días a 2°C a 8°C antes del ensayo.

Las muestras almacenadas por un período de tiempo mas largo han de congelarse sólo una vez a -20°C antes del ensayo. Las muestras descongeladas deben invertirse varias veces antes del ensayo.

### 5.3 Dilución de las muestras

Si en un ensayo inicial, se encuentra una muestra que presenta valores mayores que el calibrador mas concentrado, ha de diluirse con **Calibrador 0** y volver a ensayarse como se describe en el Procedimiento de Ensayo.

Para el cálculo de las concentraciones habrá que tener en cuenta el factor de dilución.

#### Ejemplo:

- a) dilución 1:10: 10 µL muestra + 90 µL **Calibrador 0** (mezclar totalmente)
- b) dilución 1:100: 10 µL dilución a) 1:10 + 90 µL **Calibrador 0** (mezclar totalmente).

## 6 PROCEDIMIENTO DE ENSAYO

### 6.1 Consideraciones generales

- Todos los reactivos y muestras han de estar a temperatura ambiente antes de su uso. Todos los reactivos deben mezclarse sin formar espuma.
- Una vez se ha comenzado el ensayo deben completarse todos los pasos sin interrupción.
- Utilizar puntas de pipeta de plástico nuevas para cada calibrador, control o muestra para evitar combinaciones cruzadas.
- La absorbancia es función del tiempo de incubación y la temperatura. Antes de comenzar el ensayo, se recomienda que todos los reactivos estén preparados, tapas removidas, todos los pocillos que se necesiten asegurados en recipiente, etc. Esto asegurará un tiempo similar para cada paso de pipeteo sin que haya interrupciones.
- Como regla general, la reacción enzimática es linealmente proporcional al tiempo y a la temperatura.
- El pipeteo de todos los calibradores, muestras y controles debe estar completado en 6 minutos. (Tenerlo en cuenta especialmente para el pipeteo manual).

### 6.2 Procedimiento de ensayo

Cada uno debe incluir una curva de calibradores.

1. Asegurar el número deseado de pocillos en el recipiente.
2. Dispensar **25 µL** de cada **Calibrador, Control y muestras con puntas nuevas** en los pocillos adecuados.
3. Dispensar **100 µL** de **Enzyme Conjugate** a cada pocillo.
4. Mezclar totalmente durante 10 segundos. Es importante mezclar completamente en este paso.
5. Incubar durante **30 minutes** a temperatura ambiente.
6. Sacudir energicamente el contenido de los pocillos.
7. Lavar los pocillos **5 veces** con agua destilada (300 µL por pocillo). Realizar un golpe seco de los pocillos contra el papel absorbente para eliminar las gotas residuales.
- Nota importante:** La sensibilidad y la precisión de este ensayo se ve marcadamente influenciada por la realización correcta del proceso de lavado!
8. Adicionar **100 µL** de **Substrate Solution** a cada pocillo.
9. Incubar durante **10 minutes** a temperatura ambiente.
10. Parar la reacción enzimática mediante la adición de **50 µL** de **Stop Solution** a cada pocillo.
11. Leer la OD a **450 ± 10 nm** con un lector de microplacas **dentro de los 10 minutos** después de la adición de la **Stop Solution**.

### 6.3 Cálculo de los Resultados

1. Calcular los valores de absorbancia media para cada conjunto de calibradores, controles y muestras de pacientes.
2. Construir una curva calibrador mediante la representación de la absorbancia media obtenida para cada calibrador frente a su concentración con el valor de absorbancia en el eje vertical (Y) y la concentración en el eje horizontal (X).
3. Usando el valor de absorbancia media de cada muestra determinar la concentración correspondiente a partir de la curva calibrador.
4. Método automatizado: Los resultados en las instrucciones de uso se han calculado automáticamente usando una curva de regresión 4 Parámetros. (4 Parámetros Rodbard o 4 Parámetros Marquardt son los métodos preferidos.) Otras funciones de regresión darán lugar a resultados sensiblemente diferentes.
5. La concentración de las muestras puede leerse directamente de la curva de calibradores. Las muestras con concentraciones superiores al mayor calibrador han de diluirse. Para el cálculo de las concentraciones hay que tener en cuenta el factor de dilución.

### **6.3.1 Ejemplo de una Curva Calibrador Típica**

Los siguientes datos son solamente para la explicación y **no** pueden ser utilizados en lugar de los datos generados en el momento del ensayo.

Calibrador	Unidades Ópticas (450 nm)
Calibrador 0 (0 ng/mL)	0,04
Calibrador 1 (5 ng/mL)	0,13
Calibrador 2 (20 ng/mL)	0,40
Calibrador 3 (50 ng/mL)	0,80
Calibrador 4 (100 ng/mL)	1,34
Calibrador 5 (200 ng/mL)	1,92

## **7 VALORES ESPERADOS**

Se recomienda encarecidamente que cada laboratorio determine sus valores normales e inusuales.

En un estudio con adultos aparentemente sanos utilizando el DIAsource Prolactin ELISA se observaron los siguientes valores:

Población	Media (ng/mL)	Desviación calibrador (ng/mL)	Percentil 5% (ng/mL)	Percentil 95% (ng/mL)
Hombres	6,44	5,50	0,94	20,94
Mujeres	14,27	5,88	2,39	25,15

## **8 CONTROL DE CALIDAD**

Se recomienda usar muestras control de acuerdo con las leyes estatales y federales. El uso de muestras control se recomienda para asegurar la validez diaria de los resultados. Usar controles tanto a niveles normal como patológico.

Los controles y los correspondientes resultados del Laboratorio de control de calidad están fijados en el certificado de control de calidad que acompañan al kit. Los valores y los rangos fijados en la hoja del control de calidad se refieren siempre al kit actual y deben usarse para la comparación directa de los resultados.

Es recomendable también hacer uso de programas de Aseguramiento de la Calidad nacionales o internacionales para asegurar la exactitud de los resultados.

Utilizar métodos estadísticos apropiados para el análisis de los valores y tendencia de los controles. Si los resultados del ensayo no se ajustan a los rangos aceptables establecidos en los controles, los resultados obtenidos de los pacientes han de considerarse inválidos.

En este caso, por favor comprobar las siguientes áreas técnicas: Pipeteo y tiempo empleado, fotómetro, fecha de caducidad de los reactivos, condiciones de almacenamiento e incubación, métodos de aspiración y lavado.

Después de comprobar los asuntos arriba mencionado sin encontrar ningún error, contactar con su distribuidor o con DIAsource directamente.

## **9 CARACTERÍSTICAS DEL ENSAYO**

### **9.1 Rango dinámico del ensayo**

El rango del ensayo se encuentra entre 0,35 – 200 ng/mL.

### **9.2 Especificidad de los Anticuerpos (Reactividad Cruzada)**

Consultar el manual de usuario en inglés.

### **9.3 Sensibilidad Analítica**

La sensibilidad analítica se calculó a partir de la media mas dos desviaciones calibrador de veinte (20) réplicas del *Calibrador 0* y resultó ser 0,35 ng/mL.

### **9.4 Precisión**

Consultar el manual de usuario en inglés.

### **9.5 Recuperación**

Consultar el manual de usuario en inglés.

### **9.6 Linealidad**

Consultar el manual de usuario en inglés.

## **10 LIMITACIONES DE USO**

Cualquier manipulación inadecuada de las muestras o modificaciones del ensayo pueden influenciar los resultados.

### **10.1 Sustancias que pueden interferir**

Hemoglobina (hasta 4 mg/mL), Bilirrubina (hasta 0.5 mg/mL) y Triglicéridos (**hasta 0,9 mg/mL**) no influencian los resultados del ensayo.

## **10.2 Interferencias con drogas**

Hasta ahora no se han encontrado sustancias (drogas) conocidas por nosotros, que tengan influencia en la medida de prolactina en una muestra.

## **10.3 Efecto Gancho-Dosis-Elevada**

No se ha observado efecto gancho en este ensayo hasta 2000 ng/mL de prolactina.

## **11 ASPECTOS LEGALES**

### **11.1 Fiabilidad de los Resultados**

El ensayo debe realizarse exactamente de acuerdo a las instrucciones del fabricante. Mas aún, el usuario debe ajustarse estrictamente a las reglas BPL (Buenas Prácticas de Laboratorio) o a otros calibradores y/o leyes nacionales aplicables. Esto es especialmente relevante para el uso de reactivos control. Es importante incluir siempre, dentro del procedimiento de ensayo, un número suficiente de controles para validar la exactitud y la precisión del ensayo.

Los resultados del ensayo son válidos sólo si todos los controles se encuentran dentro de los rangos especificados y si todos los otros parámetros del ensayo se encuentran dentro de las especificaciones dadas para el ensayo. En caso de alguna duda o inquietud, por favor, contactar con DIAsource.

### **11.2 Consecuencias Terapéuticas**

Las consecuencias terapéuticas nunca deben basarse sólo en los resultados de laboratorio incluso si todos los resultados del ensayo están de acuerdo con los asuntos fijados en el punto 11.1. Cualquier resultado de laboratorio es solamente una parte del cuadro clínico de un paciente.

Solamente en los casos donde los resultados de laboratorio están en acuerdo con todo el cuadro clínico de un paciente, se pueden derivar consecuencias terapéuticas.

Nunca deben derivarse consecuencias terapéuticas a partir de solamente el resultado obtenido en el ensayo

### **11.3 Responsabilidad**

Cualquier modificación del kit y/o cambio o mezcla de cualquier componente procedentes de kits de lotes diferentes puede afectar negativamente a los resultados esperados y en la validez de todo el test. Esas modificaciones y/o cambios invalidan cualquier reclamación de reposición.

Las reclamaciones emitidas debidas a una mala interpretación de los resultados de laboratorio por parte del comprador referidos al punto 11.2 son también inválidas. A pesar de todo, en el caso de cualquier reclamación, la responsabilidad del fabricante no excede el valor del kit. Cualquier daño provocado al kit durante su transporte no está sujeto a la responsabilidad del fabricante.

## **12 REFERENCIAS / BIBLIOGRAFÍA**

Consultar el manual de usuario en inglés.

Última revisión : 2023-07-18