

## hPRL [I-125] IRMA kit

**RK-780CT.** Estuche para 100 determinaciones

Ensayo inmunoradiométrico para la determinación cuantitativa *in vitro* de prolactina humana (hPRL) en suero, en el rango de 0,15-170 ng/mL.

### Introducción

La prolactina humana (hPRL) es una hormona polipeptídica con una masa molecular de 22 kDa, segregada por la hipófisis anterior.

La secreción de prolactina está regulada por complejos mecanismos que incluyen neurotransmisores (dopamina, serotonina). Se ha demostrado el efecto estimulador de la TRH (hormona liberadora de la tiroxina) y el efecto inhibidor del PIF (factor inhibidor de la prolactina) en su producción.

La prolactina juega un importante papel fisiológico en la iniciación y mantenimiento de la lactancia en los seres humanos.

Cuando se encuentra en concentraciones elevadas la prolactina puede ejercer efectos inhibitorios sobre la función gonadal. En caso de infertilidad es recomendable medir la concentración de hPRL, así como en la investigación de perturbaciones del sistema hipotálamo-hipófisis-gónadas. Además, pueden observarse concentraciones elevadas durante el embarazo, lactancia, situaciones de estrés y adenomas hipofisarios, entre otros.

### Principio del ensayo

Este ensayo utiliza el principio del análisis inmunoradiométrico (IRMA) en fase sólida. Para ello emplea dos anticuerpos monoclonales que reconocen dos epítopes diferentes de la molécula. Uno de ellos está marcado con radioyodo (anticuerpo "señal") y el otro, no marcado, funciona como anticuerpo "captura".

El inmunocomplejo formado por el antígeno con los dos anticuerpos ("sándwich") se inmoviliza en la superficie de los tubos de ensayo durante un período de incubación de 1 hora bajo agitación constante. Después se decantan los tubos y se mide la radiactividad enlazada en un contador gamma. La radiactividad presente en los tubos es directamente proporcional a la concentración de la hormona presente en el sistema. Utilizando calibradores de concentración conocida de hPRL se prepara una curva de calibración a partir de la cual se determina por interpolación la concentración de hPRL presente en las muestras.

### Contenido del juego

**1. TRAZADOR,** 1 frasco con 21 mL, listo para usar, contiene < 740 kBq de anticuerpo monoclonal anti-hPRL marcado con <sup>125</sup>I y anticuerpo monoclonal anti-hPRL biotinilado en solución tampón con 0,1 % NaN<sub>3</sub> y colorante rojo.

**2. CALIBRADORES (S1-S6),** 6 frascos con 1 mL de suero bovino liofilizado con 0,1% NaN<sub>3</sub>. La concentración de los calibradores está especificada en la etiqueta y en el certificado de calidad incluido.

**3. SUERO CONTROL,** 1 frasco, contiene 1 mL de suero humano liofilizado con 0,1% NaN<sub>3</sub>. La concentración del suero control está especificada en el certificado de calidad incluido.

**4. TUBOS RECUBIERTOS:** 2x50 tubos de 12x75 mm, empaquetados en cajas plásticas, listos para usar.

**5. SOLUCIÓN DE LAVADO,** 1 frasco, contiene 20 mL de solución concentrada. Diluir con 700 mL de agua destilada. Contiene 0,2 % NaN<sub>3</sub>.

### Materiales y equipos necesarios

Gradilla para tubos de ensayo, pipetas de precisión con puntas desechables (100, 200 y 2000 µL), agitador horizontal u orbital, lámina de polietileno, papel absorbente, contador gamma.

#### Materiales y equipos recomendados:

Pipeta de repetición (200 y 2000 µL). Jeringa automática (dispensador) para el lavado.

### Recolección y almacenamiento de las muestras

Las muestras de suero deben colectarse de acuerdo a los procedimientos habituales que se practican en los laboratorios clínicos. Las muestras pueden conservarse entre 2 y 8 °C si el análisis se efectuará dentro de las 24 horas siguientes a su recolección, de lo contrario deben conservarse congeladas a una temperatura igual o menor que -20 °C hasta 4 meses. Las muestras congeladas deben descongelarse y mezclarse completamente antes de su uso. Evitar la congelación y descongelación repetida de las muestras.

### Preparación y conservación de los reactivos

Conservar los reactivos entre 2 y 8 °C después de abiertos. A esta temperatura cada componente es estable hasta la fecha de vencimiento del juego. La fecha de caducidad exacta se especifica en la etiqueta del estuche y en el certificado de calidad.

La solución concentrada de lavado debe diluirse con 700 mL de agua destilada. Así diluida esta solución se conserva entre 2 y 8 °C hasta la fecha de vencimiento del juego.

Los calibradores y el suero control se reconstituyen con 1 mL de agua destilada. Para ello se debe mezclar suavemente evitando la formación de espuma. Permitir que la solución alcance la temperatura ambiente (20 a 30 °C) antes de su uso. Para usos posteriores conservar congelado bajo -20 °C hasta la fecha de vencimiento.

#### ¡PRECAUCIÓN!

Permitir que todos los reactivos y muestras alcancen la temperatura ambiente. Homogenizar completamente todos los reactivos y muestras antes de su uso, evitando la formación de espuma.

### Procedimiento para el ensayo

(Ver Tabla 1.)

- Rotular los tubos recubiertos por duplicado para los totales (T), calibradores (S1-S6), suero control (C) y muestras (M).
- Añadir por duplicado 100 µL de calibrador, suero control y muestras en los tubos apropiados.
- Añadir 200 µL de trazador en cada tubo.
- Fijar la gradilla con los tubos de ensayo firmemente en el agitador horizontal.

Cubrir los tubos con una lámina de polietileno. Encender el agitador y ajustar la velocidad de manera tal que el líquido en los tubos esté rotando o agitándose constantemente. Incubar los tubos a temperatura ambiente en el agitador durante 1 hora.

- Añadir 2 mL de solución de lavado a cada tubo. Aspirar o decantar el líquido de todos los tubos (excepto T) mediante la inversión de la gradilla. Colocar la gradilla sobre un papel absorbente por 2 minutos manteniendo la posición invertida.
- Repetir una vez el procedimiento de lavado según el punto 5.
- Medir la radiactividad de cada tubo por 60 segundos en un contador gamma y calcular la concentración de hPRL en las muestras como se describe a continuación.

Tabla 1. Protocolo del ensayo (volúmenes en microlitros)

	T	S1-S6	C	M
Calibrador		100		
Control			100	
Muestra				100
Trazador	200	200	200	200
Agitar 1 hora a temperatura ambiente				
Solución de lavado		2000	2000	2000
Decantar y secar en papel absorbente				
Solución de lavado		2000	2000	2000
Decantar y secar en papel absorbente				
Medir la radiactividad (60 s/tubo)				
Procesar los datos				

### Cálculo de los resultados

En la Tabla 2 y la figura 1 se muestran a manera de ejemplo los cálculos y una curva estándar típica de un ensayo.

Para los cálculos:

Hallar la media de los conteos por minuto (cpm) para cada par de tubos. Restar de cada media el promedio de cpm obtenido para el calibrador de concentración cero (S1 = enlace no específico, NSB). Los valores así corregidos se dividen por la actividad total (T) como se muestra a continuación:

$$B/T (\%) = \frac{S2-6/C/Mx/(\text{cpm}) - S1(\text{cpm})}{T(\text{cpm})} \times 100$$

Construir una curva estándar ploteando las medias de cpm o, alternativamente, los valores B/T% contra la concentración de hPRL de cada calibrador en un papel log-log.

Determinar la concentración de hPRL en las muestras basándose en las respectivas medias de cpm o en los valores B/T%, por interpolación de la curva estándar. No extrapolar valores fuera del rango de la curva.

Para el procesamiento automatizado de los datos, recomendamos el uso del programa de ajuste tipo spline, desarrollado especialmente para el análisis inmunoradiométrico. Existen programas que interpolan los valores que se encuentran entre el calibrador de concentración cero y el primer calibrador. Entre las concentraciones así calculadas, solo aquellas mayores que el límite de detección del ensayo pueden considerarse como reales (ver sensibilidad)

Tabla 2. Resultados característicos del ensayo

Tubos	hPRL (ng/mL)	Media cpm	B/T%
T		278224	
S1	0	59	0,02
S2	2	2277	0,82
S3	7	7169	2,58
S4	18	19278	6,96
S5	52	54597	19,7
S6	160	137653	49,7
C	7,3	7515	2,7

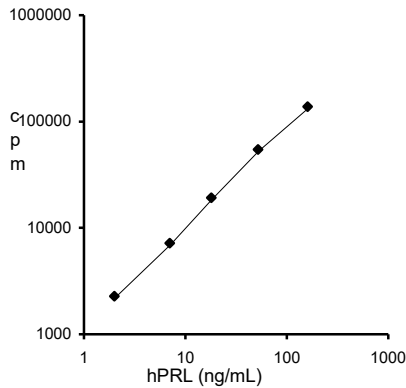


Figura 1. Curva estándar típica (No utilizar para calcular concentraciones de las muestras!)

## Características del ensayo

### Calibración

1 ng del calibrador equivale a 35  $\mu$ IU del estándar de referencia NIBSC 97/714.

### Especificidad

La reacción cruzada con hGH es de 1,96%. No se observa reacción cruzada detectable con las hormonas hTSH, hLH, hFSH y hCG en concentraciones superiores a las fisiológicas normales.

### Sensibilidad

Los Límites del Blanco (LoB), de Detección (LoD) y de Cuantificación (LoQ) fueron determinados según la guía del CLSI, documento EP17-A2.

LoB: 0.06 ng/mL

LoD: 0.15 ng/mL

LoQ: 0.18 ng/mL

### Precisión

La precisión intra-ensayo fue determinada a partir de 20 réplicas de 3 muestras, medidas en una serie.

Mean ng/mL	SD	CV %
6,36	0,31	4,82
12,21	0,57	4,67
27,69	0,79	2,86

Para determinar la precisión inter-ensayo se midieron por duplicado 5 muestras, en 20 series independientes.

Media (ng/mL)	SD	CV %
3,64	0,14	3,78
6,34	0,34	5,41
15,63	1,21	7,74
30,81	1,78	5,77
75,20	2,36	3,13

## Prueba de recuperación

La recuperación se determinó como la diferencia porcentual entre el incremento observado y el incremento esperado, luego de añadir concentraciones conocidas de hPRL a 3 niveles a 5 muestras de suero diferentes. Se obtuvieron valores de recuperación entre 97% y 107% (media: 102,6%).

### Linealidad

La linealidad se evaluó de acuerdo con el documento EP06-A del CLSI, utilizando el método polinomial. El método resultó lineal desde 0,06 ng/ml hasta 246,3 ng/ml, con un margen de error del 10 % en este intervalo.

### Valores de referencia

Los valores que se proporcionan a continuación (expresados en ng/mL) deben considerarse solo como informativos. Se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios intervalos de referencia.

	Hombres	Mujeres	Menopausa
Muestras	113	147	94
Media	5,47	8,40	5,91
Mediana	4,52	7,25	5,06
rango 95% central	2-14	3-20	2-15

### Interferencias

No se observa interferencia hasta las siguientes concentraciones:

Bilirrubina	143 $\mu$ mol/l
Triglicéridos	27 mmol/l
Hemoglobina	12,2 g/l
Factor Reumatoide	400 IU/ml
Biotina	50 ng/ml
Acido acetilsalicílico	3,0 mg/dl
Acido ascórbico	5,25 mg/dl
Diclofenaco	2,4 mg/dl
Ibuprofeno	21,9 mg/dl
Paracetamol	15,6 mg/dl
Bromocriptina	10 mg/dl
Cabergolina	1 mg/dl
Lanreotide	10 mg/dL
Octreotide	1,2 mg/dL

## Limitaciones del procedimiento

- Los reactivos provistos en este juego están optimizados para la medición del hPRL en suero humano.
- Los resultados de este análisis deben ser utilizados conjuntamente a la información clínica pertinente.
- Las muestras hemolizadas, turbias o lipémicas pueden dar resultados falsos, evite su uso.
- No se observa efecto Hook con el uso del presente producto en concentraciones de hPRL hasta 2500 ng/mL. Para cualquier muestra con una concentración en el intervalo entre 160-2500 ng/mL se obtendrán valores superiores a 160 ng/mL. Estas muestras deben ser diluidas con el calibrador de concentración cero y reanalizadas.

## Notas acerca del procedimiento

1) **Fuente de error!** Los tubos recubiertos no están marcados individualmente. Se debe evitar la mezcla con tubos de ensayo comunes. Para minimizar este riesgo, no se deben sacar de la caja más tubos de los necesarios, de igual manera los tubos no utilizados en una serie deben ser guardados de nuevo en su caja. Se recomienda rotular los tubos con marcador permanente.

2) **Fuente de error!** Para asegurar la agitación eficiente de los tubos se debe utilizar una gradilla que los ajuste firmemente. Una agitación inadecuada puede provocar un rendimiento deficiente del ensayo y falsos resultados.

3) **Dosificación de la solución de lavado.** Para la adición de la solución de lavado se recomienda una jeringa automática o dispensador, equipado con un recipiente de 1 litro y un tubo flexible para la dosificación. En su ausencia puede utilizarse una pipeta automática apropiada.

¡**Atención!** ¡No mezclar los componentes de lotes diferentes o con productos de otro fabricante!

## Precauciones

### Material radiactivo

Este producto contiene material radiactivo. Es responsabilidad de cada laboratorio cumplir con las regulaciones locales referentes a la manipulación, conservación y desecho de materiales radiactivos.

### Material potencialmente infeccioso

El suero humano utilizado en este producto ha sido analizado con métodos aprobados y no ha presentado positividad para anticuerpos frente a los virus de Inmunodeficiencia Humana (Anti-HIV-1/2) y Hepatitis-C (HCV), anticuerpos anti-Treponema y el antígeno de superficie de la Hepatitis-B (HBsAg). Ninguno de los métodos analíticos disponibles actualmente puede garantizar por completo la eliminación de posibles riesgos biológicos. Se deben manipular todos los reactivos y muestras de sangre como material potencialmente infeccioso.

El suero bovino utilizado en este producto proviene de países donde no se ha reportado la encefalopatía esponjiforme. No obstante, los componentes que contienen suero animal deben considerarse como *material potencialmente infeccioso*.

### Peligro químico

Algunos componentes de este juego contienen azida sódica como preservante. Al verter los desechos no radiactivos al sistema de desagüe se debe diluir con grandes cantidades de agua, para evitar la acumulación de azidas metálicas explosivas en las tuberías de plomo y cobre. Este producto contiene en total 68 mg de azida sódica.

**MSDS:** La hoja de datos de seguridad está disponible públicamente en el sitio web [www.izotop.hu/immunoassay](http://www.izotop.hu/immunoassay).

	Fecha de vencimiento		LOT	Número de lote
	Almacenar entre 2 y 8 °C		CONTROL	Suero Control
	Precaución		CAL	Calibrador
	Peligro biológico		CT	Tubos recubiertos
	Consulte las instrucciones		TRAC	Trazador
	Dispositivo para diagnóstico <i>in vitro</i>		WASHB	Tampón de lavado
	Fabricante			Material radiactivo
	Número de referencia			

Website: <http://www.izotop.hu>

Technical e-mail: [immuno@izotop.hu](mailto:immuno@izotop.hu)

Commercial e-mail: [commerce@izotop.hu](mailto:commerce@izotop.hu)

**IZOTOP**

INSTITUTE OF ISOTOPES Ltd.

1535 Budapest. Pf.: 851.

Tel.: (36-1)392-2577, Fax: (36-1)395-9247

Edición: Septiembre/2024