



PRL-Irma

KIP1441

Read entire protocol before use.

PRL-IRMA

I. INTENDED USE

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

II. GENERAL INFORMATION

- A. Proprietary name :** DIAsource PRL-IRMA Kit
- B. Catalog number :** KIP1441: 96 tests
KIP1444: 4x96 tests
- C. Manufactured by :** DIAsource ImmunoAssays S.A.
Rue de l'Industrie 8, B-1400 Nivelles, Belgium.

For technical assistance or ordering information contact :
Tel : +32 (0)67 88.99.99 Fax : +32 (0)67 88.99.96

III. CLINICAL BACKGROUND

A. Biological activities

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

B. Clinical application

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

IV. PRINCIPLES OF THE METHOD

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

V. REAGENTS PROVIDED

Reagents	Quantity 96 tests	Quantity 4x96 tests	Colour Code	Reconstitution
 Tubes coated with anti PRL (monoclonal antibodies)	2 x 48	8 x 48	orange	Ready for use
Ab^{125I} Anti-PRL- ^{125}I (monoclonal antibodies) in TRIS Buffer with bovine serum albumin, sodium azide (0.5 %) and inert red dye	1 vial 22 ml 340 kBq	4 vials 22 ml 4x340 kBq	red	Ready for use
CAL 0 Zero Calibrator in bovine serum with thymol	1 vial lyophil.	2 vials lyophil.	yellow	Add 2.0 ml distilled water
CAL N Calibrators 1-5 in bovine serum with thymol (see exact values on vial labels)	5 vials lyophil.	2 x 5 vials lyophil.	yellow	Add 0.5 ml distilled water
WASH SOLN CONC Wash solution (TRIS-HCl)	1 vial 10 ml	4 vials 10 ml	brown	Dilute 70 x in distilled water (use a magnetic stirrer).
CONTROL N Controls 1 and 2 in human serum with thymol	2 vials lyophil.	2 x 2 vials lyophil.	silver	Add 0.5 ml distilled water

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

VI. SUPPLIES NOT PROVIDED

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

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

VII. REAGENT PREPARATION

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

VIII. STORAGE AND EXPIRATION DATING OF REAGENTS

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

IX. SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

- § Serum and plasma must be kept at 2 – 8°C.
 - § If the test is not run within 24 hours, storage at -20°C is recommended.
 - § Avoid subsequent freeze-thaw cycles.
 - § Do not use haemolysed samples.
 - § Serum or plasma (EDTA and heparin) provides similar results.
- $$Y (\text{serum}) = 1.09x (\text{hep. plasma}) + 0.05 \quad r = 0.95 \quad n = 30$$
- $$Y (\text{serum}) = 0.96x (\text{EDTA plasma}) + 0.14 \quad r = 0.98 \quad n = 30$$

X. PROCEDURE

A. Handling notes

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

B. Procedure

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

XI. CALCULATION OF RESULTS

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

XII. TYPICAL DATA

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

PRL-IRMA		cpm	B/T (%)
Total count		135774	100
Calibrator	0.0 ng/ml	224	0.16
	2.8 ng/ml	1266	0.93
	9.4 ng/ml	3401	2.5
	30.0 ng/ml	8124	5.98
	80.0 ng/ml	17778	13.09
	133.0 ng/ml	25312	18.64

Detection range : 0.35 to 133 ng/ml

XIII. PERFORMANCE AND LIMITATIONS

A. Detection Limit

Twenty zero calibrators were assayed along with a set of other calibrators. The detection limit, defined as the apparent concentration two standard deviations above the average counts at zero binding, was 0.35 ng/ml.

B. Specificity

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

added Hormone	PRL CAL 1 ng/ml	PRL CAL 2 ng/ml
-	2.4	66
LH 300 mIU/ml	2.6	62
FSH 300 mIU/ml	2.5	62
hCG 300000 mIU/ml	2.5	63
hPL 50000 ng/ml	2.9	67
hGH 1000 ng/ml	2.3	68
TSH 300 µIU/ml	2.1	59

The DIAsource PRL-IRMA measures total PRL, which means both the active prolactin monomer and the biologically inactive macroprolactin (see references 10 and 11).
For patients showing an elevated PRL level with this kit, additional information should be obtained in order to establish a correct diagnosis.

The potentially interfering effects of hemoglobin at 7.5 mg/ml and of bilirubin at 0.2 mg/ml have been evaluated. The results of this test do not demonstrate any significant interference (see the table below).

Sample	Initial value (ng/ml)	Value + Hemoglobin (ng/ml)	Value + Bilirubin (ng/ml)
Plasma 1	7.5	7.6	6.8
Plasma 2	40.8	41	38
Serum 1	6.1	6.2	5.6
Serum 2	5.7	5.6	5.5

C. Precision

INTRA ASSAY				INTER ASSAY			
Serum	N	<X> ± S.D. (ng/ml)	CV (%)	Serum	N	<X> ± S.D. (ng/ml)	CV (%)
A B	10	7.5 ± 0.2	3.3	C D	20	7.4 ± 0.7	9.2
	10	26.6 ± 1.4	5.2		20	49.1 ± 2.2	4.5

D. Accuracy

RECOVERY TEST			
Sample	Added PRL (ng/ml)	Recovered PRL (ng/ml)	Recovery (%)
A	2	1.8	90.0
	5	5.0	100.0
	10	9.8	98.0
	20	19.5	97.5
	50	45.6	91.2

DILUTION TEST			
Sample	Dilution	Theoretical Concent. (ng/ml)	Measured Concent. (ng/ml)
1	1/1	-	192.0
	1/2	96.0	97.0
	1/4	48.0	57.0
	1/8	24.0	30.6
	1/16	12.0	10.3
2	1/1	-	232.0
	1/2	116.0	122.0
	1/4	58.0	65.0
	1/8	29.0	27.4
	1/16	14.5	15.3

Samples were diluted with zero calibrator.

E. Time Delay

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

TIME DELAY				
	0' (ng/ml)	15' (ng/ml)	30' (ng/ml)	60' (ng/ml)
Serum 1	5.4	5.8	6.4	6.3
Serum 2	23.2	22.3	26.8	25.9

F. Hook effect

A serum sample with a concentration of 18000 ng/ml PRL gives a signal above the highest calibrator concentration.

XIV. INTERNAL QUALITY CONTROL

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

XV. REFERENCE INTERVALS

The values provided below are given only for guidance; each laboratory should establish its own normal range of values.
PRL concentrations were measured in serum samples obtained from different categories of healthy subjects.

Identification	Number of subjects	Mean (ng/ml)	Range (ng/ml)
Males	97	4.8	1.8 - 15.9
Pre-menopausal women	95	8.6	2.7 - 19.7
Post-menopausal women	47	6.1	1.9 - 17.9

XVI. PRECAUTIONS AND WARNINGS

Safety

For in vitro diagnostic use only.

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

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

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

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

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

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

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

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

XVII. BIBLIOGRAPHY

1. Archer D.F. (1977).
Current concepts of prolactin physiology in normal and abnormal conditions.
Fertil Steril 28:125.
2. Laufer N., Botero-Ruiz W., De Chemey A.H., et al. (1984).
Gonadotropin and prolactin levels in follicular fluid of human ova successfully fertilized in vitro.
J. Clin. Endocrinol. Metab. 58:430.
3. Leong D.A., Frawley L.S., Neil J.D. (1983).
Neuroendocrine control of prolactin secretion.
An. Rev. of Physiol. 45:109.
4. Seppala M. (1978).
Prolactin and female reproduction.
An. Clin. Res. 10:164.
5. Taylor T.J., Trouson A, Besanko M., Burger H.G., Stockdale J. (1986).
Plasma progesterone and prolactin changes in superovulated women before, during and immediately after laparoscopy for in vitro fertilisation and their relation to pregnancy
Fertil. Steril 45:680.
6. Tyson J.E. (1980)
Changing role of placental lactogen and prolactin in human gestation.
Clin. Obstet.Gynecol 23:737.
7. Kamel M.A et al (1994)
Comparison between prolactin, gonadotropins and steroid hormones in serum and follicular fluid after stimulation with gonadotrophin-releasing hormone agonist and human menopausal gonadotrophin for an in-vitro fertilization program.
Hum. Reprod. 9(10):1803-6.

8. Patel D.D. et al (1994).
Plasma prolactin in patients with colorectal cancer. Value in follow-up and as a prognosticator
Cancer 73(3):570-74.
9. Hattori et al (1994).
Effects of anti-prolactin autoantibodies on serum prolactin measurements.
Eur. J. Endocrinol. 130(5):434-7.
10. Suh H.K. et al (1974).
Size heterogeneity of human Prolactin in plasma and pituitary extracts.
J. Clin. Endocrinol Metab 39 : 928-935.
11. Bonhoff A. et al (1995)
Identification of macroprolactin in a patient with asymptomatic hyperprolactinemia as a stable PRL-IgG complex.
Exp. Clin. Endocrinol. 103 : 252-5

XVIII. SUMMARY OF THE PROTOCOL

	TOTAL COUNTS ml	CALIBRATORS ml	SAMPLE(S) ml
Calibrators (0-5) Samples Tracer	- 0.200	0.025 - 0.200	- 0.025 0.200
Incubation	2 hours at room temperature		
Separation Washing solution Separation	- - -	aspirate (or decant) 2.0 aspirate (or decant)	
Counting	Count tubes for 60 seconds		

DIAsource Catalogue Nr : KIP1441 - KIP1444	P.I. Number : 1700465/en	Date of issue : 100813/1
---	-----------------------------	-----------------------------

Revision date : 2010-08-13

Lire entièrement le protocole avant utilisation.

PRL-IRMA

I. BUT DU DOSAGE

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

II. INFORMATIONS GENERALES

- A. **Nom du produit :** DIAsource PRL-IRMA kit
- B. **Numéro de catalogue :** KIP1441 : 96 tests
KIP1444 : 4 x 96 tests
- C. **Fabriqué par :** DIAsource ImmunoAssays S.A.
Rue de l'Industrie, 8 B-1400 Nivelles Belgium.

Pour une assistance technique ou une information sur une commande :

Tel : +32 (0)67 88.99.99

Fax : +32 (0)67 88.99.96

III. CONTEXTE CLINIQUE

A. Activités biologiques

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

B. Application clinique

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

IV. PRINCIPLE DU DOSAGE

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

V. REACTIFS FOURNIS

Reactifs	96 tests Kit	4x96 tests Kit	Code Couleur	Reconstitution			
 Tubes recouverts avec l'anti PRL (anticorps monoclonal)	2 x 48	8 x 48	orange	Prêt à l'emploi			
<table border="1"><tr><td>Ab</td><td>¹²⁵I</td></tr></table> TRACEUR: anti-PRL marquée à l' ¹²⁵ Iodine (anticorps monoclonaux) dans un tampon TRIS avec de l'albumine bovine, de l'azide de sodium (0,5%) et un colorant rouge inactif	Ab	¹²⁵ I	1 flacon 22 ml 340 kBq	4 flacons 22 ml 4x340 kBq	Rouge	Prêt à l'emploi	
Ab	¹²⁵ I						
<table border="1"><tr><td>CAL</td><td>0</td></tr></table> Calibrateur zéro dans du sérum bovin et du thymol	CAL	0	1 flacon lyophilisé	2 flacons lyophilisés	Jaune	Ajouter 2 ml d'eau distillée	
CAL	0						
<table border="1"><tr><td>CAL</td><td>N</td></tr></table> Calibrateur N = 1 à 5 (cfr. Valeurs exactes sur chaque flacon) dans du sérum bovin et du thymol	CAL	N	5 flacons lyophilisés	2 x 5 flacons lyophilisés	Jaune	Ajouter 0,5 ml d'eau distillée	
CAL	N						
<table border="1"><tr><td>WASH</td><td>SOLN</td><td>CONC</td></tr></table> Solution de Lavage (Tris-HCl)	WASH	SOLN	CONC	1 flacon 10 ml	4 flacons 10 ml	Brun	Diluer 70 x avec de l'eau distillée (utiliser un agitateur magnétique).
WASH	SOLN	CONC					
<table border="1"><tr><td>CONTROL</td><td>N</td></tr></table> Contrôles - N = 1 ou 2 dans du sérum humain et du thymol	CONTROL	N	2 flacons lyophilisés	2 x 2 flacons lyophilisés	Gris	Ajouter 0,5 ml d'eau distillée	
CONTROL	N						

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

VI. MATERIEL NON FOURNI

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

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

VII. PREPARATION DES REACTIFS

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

VIII. STOCKAGE ET DATE D'EXPIRATION DES REACTIFS

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

IX. PREPARATION ET STABILITE DE L'ECHANTILLON

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

Y (sérum) = 1,09x (plasma hép.) + 0,05

Y (sérum) = 0,96x (plasma EDTA) + 0,14

r = 0,95

r = 0,98

n = 30

n = 30

X. MODE OPERATOIRE

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

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

XI. CALCUL DES RESULTATS

- Calculer la moyenne de chaque détermination réalisée en double.
- Dessiner sur un graphique linéaire ou semi-logarithmique les cpm (ordonnées) pour chaque calibrateur contre la concentration correspondante en PRL (abscisses) et dessiner une courbe de calibration à l'aide des points de calibration, écarter les valeurs aberrantes.
- Lire la concentration pour chaque contrôle et échantillon par interpolation sur la courbe de calibration.
- L'analyse informatique des données simplifiera les calculs. Si un système d'analyse de traitement informatique des données est utilisé, il est recommandé d'utiliser la fonction « 4 paramètres » du lissage de courbes.

XII. DONNEES TYPES

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

PRL-IRMA		cpm	B/T (%)
Activité totale		135774	100
Calibrateur	0,0 ng/ml	224	0,16
	2,8 ng/ml	1266	0,93
	9,4 ng/ml	3401	2,5
	30,0 ng/ml	8124	5,98
	80,0 ng/ml	17778	13,09
133,0 ng/ml		25312	18,64

Plage de mesure : 0,35 à 133 ng/ml

XIII. PERFORMANCE ET LIMITES DU DOSAGE

A. Sensibilité
Vingt calibrateurs zéro ont été testés en parallèle avec un assortiment d’autres calibrateurs. La limite de détection, définie comme la concentration apparente située 2 déviations standards au-dessus de la moyenne déterminée à la fixation zéro, était de 0,35 ng/ml.

B. Spécificité

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

Hormone ajoutée	PRL CAL 1 ng/ml	PRL CAL 2 ng/ml
-	2,4	66
LH 300 mUI/ml	2,6	62
FSH 300 mUI/ml	2,5	62
hCG 300000 mUI/ml	2,5	63
hPL 50000 ng/ml	2,9	67
hGH 1000 ng/ml	2,3	68
TSH 300 µUI/ml	2,1	59

La trousse DIASource PRL-Irma mesure la PRL totale, c'est-à-dire la prolactine monomère active et la macroprolactine biologiquement inactive (cf références bibliographiques 10 et 11)
Pour les patients ayant des taux élevés en Prolactine avec ce dosage, il est recommandé de rassembler des informations supplémentaires à leur sujet afin d’établir un diagnostic correct.

Les interférences potentielles avec l’hémoglobine à 7.5 mg/ml et avec la bilirubine à 0.2 mg/ ml ont été étudiées dans la trousse DIASource PRL-Irma .Les résultats des ces tests (cf :le tableau ci-dessous) ne montrent aucune interférence significative .

Echantillon :	Valeur initiale (ng/ml)	Valeur + Hémoglobine (ng/ml)	Valeur + Bilirubine (ng/ml)
Plasma 1	7.5	7.6	6.8
Plasma 2	40.8	41	38
Sérum 1	6.1	6.2	5.6
Sérum 2	5.7	5.6	5.5

C. Précision

INTRA-ESSAI				INTER-ESSAI			
Sérum	N	<X> ± SD (ng/ml)	CV (%)	Sérum	N	<X> ± SD (ng/ml)	CV (%)
A B	10	7,5 ± 0,2	3,3	C D	20	7,4 ± 0,7	9,2
	10	26,6 ± 1,4	5,2		20	49,1 ± 2,2	4,5

SD : Déviation Standard; CV: Coefficient de variation

D. Exactitude

TEST DE RECUPERATION			
Echantillon	PRL ajoutée (ng/ml)	PRL récupérée (ng/ml)	Récupération (%)
A	2	1,8	90,0
	5	5,0	100,0
	10	9,8	98,0
	20	19,5	97,5
	50	45,6	91,2

TEST DE DILUTION			
Echantillon	Dilution	Concent. théorique (ng/ml)	Concent. Mesurée (ng/ml)
1	1/1	-	192,0
	1/2	96,0	97,0
	1/4	48,0	57,0
	1/8	24,0	30,6
	1/16	12,0	10,3
2	1/1	-	232,0
	1/2	116,0	122,0
	1/4	58,0	65,0
	1/8	29,0	27,4
	1/16	14,5	15,3

Les échantillons ont été dilués avec le calibrateur zéro.

E. Délai entre la distribution du dernier calibrateur et celle de l’échantillon
Comme montré ci-dessous, les résultats d’un essai restent précis même quand un échantillon est distribué 60 minutes après que le calibrateur a été ajouté aux tubes avec l’anticorps.

DELAÏ				
	0’ (ng/ml)	15’ (ng/ml)	30’ (ng/ml)	60’ (ng/ml)
S 1	5,4	5,8	6,4	6,3
S 2	23,2	22,3	26,8	25,9

F. Effet crochet
Un échantillon de sérum avec une concentration de 18000 ng/ml PRL donne des cpm supérieurs au dernier point de calibration.

XIV. CÔNTROLE QUALITE INTERNE

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

XV. VALEURS ATTENDUES

Les valeurs sont donnés à titre d’ information; chaque laboratoire doit établir ses propres écarts de valeurs.
Les concentrations de PRL ont été mesurées dans des échantillons de sérum provenant de différentes catégories de sujets sains.

Identification	Nombre de sujets	Moyenne (ng/ml)	Portée (ng/ml)
Hommes	97	4,8	1,8 - 15,9
Femmes pré-ménopausiques	95	8,6	2,7 - 19,7
Femmes post-ménopausiques	47	6,1	1,9 - 17,9

XVI. PRECAUTIONS ET AVERTISSEMENTS

Sécurité
Pour utilisation en diagnostic *in vitro* uniquement.
Cette trousse contient de l'125I (demi-vie: 60 jours), une matière radioactive émettant des rayonnements ionisants X (28 keV) et γ (35.5 keV).
Ce produit radioactif peut uniquement être reçu, acheté, possédé ou utilisé par des personnes autorisées; l'achat, le stockage, l'utilisation et l'échange de produits radioactifs sont soumis à la législation du pays de l'utilisateur final. Ce produit ne peut en aucun cas être administré à l'homme ou aux animaux.
Toutes les manipulations radioactives doivent être exécutées dans un secteur désigné, éloigné de tout passage. Un journal de réception et de stockage des matières radioactives doit être tenu à jour dans le laboratoire. L'équipement de laboratoire et la verrerie, qui pourrait être contaminée avec des substances radioactives, doivent être isolés afin d'éviter la contamination croisée de plusieurs isotopes.
Toute contamination ou perte de substance radioactive doit être réglée conformément aux procédures de radio sécurité. Les déchets radioactifs doivent être placés de manière à respecter les réglementations en vigueur. L'adhésion aux règles de base de sécurité concernant les radiations procure une protection adéquate.
Les composants de sang humain inclus dans ce kit ont été évalués par des méthodes approuvées par l'Europe et/ou la FDA et trouvés négatifs pour HBsAg, l'anti-HCV, l'anti-HIV-1 et 2. Aucune méthode connue ne peut offrir l'assurance complète que des dérivés de sang humain ne transmettent pas d'hépatite, le sida ou toute autre infection. Donc, le traitement des réactifs, du sérum ou des échantillons de plasma devront être conformes aux procédures locales de sécurité. Tous les produits animaux et leurs dérivés ont été collectés d'animaux sains. Les composants bovins proviennent de pays où l'ESB n'a pas été détectée. Néanmoins, les composants contenant des substances animales devront être traités comme potentiellement infectieux.
L'azide de sodium est nocif s'il est inhalé, avalé ou en contact avec la peau (l'azide de sodium est utilisé comme agent conservateur). L'azide dans cette trousse pouvant réagir avec le plomb et le cuivre dans les canalisations et donner des composés explosifs, il est nécessaire de nettoyer abondamment à l'eau le matériel utilisé.
Ne pas fumer, ni boire, ni manger ni appliquer de produits cosmétiques dans les laboratoires où des produits radioactifs sont utilisés. Ne pas pipeter avec la bouche. Utiliser des vêtements protecteurs et des gants à usage unique.

XVII. BIBLIOGRAPHIE

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

2. Laufer N., Botero-Ruiz W., De Chemey A.H., et al. (1984).
Gonadotropin and prolactin levels in follicular fluid of human ova successfully fertilized in vitro.
J. Clin. Endocrinol. Metab. 58:430.

3. Leong D.A., Frawley L.S., Neil J.D. (1983).
Neuroendocrine control of prolactin secretion.
An. Rev. of Physiol. 45:109.

4. Seppala M. (1978).
Prolactin and female reproduction.
An. Clin. Res. 10:164.

5. Taylor T.J., Trouson A, Besanko M., Burger H.G., Stockdale J. (1986).
Plasma progesterone and prolactin changes in superovulated women before, during and immediately after laparoscopy for in vitro fertilisation and their relation to pregnancy
Fertil. Steril 45:680.

6. Tyson J.E. (1980)
Changing role of placental lactogen and prolactin in human gestation.
Clin. Obstet.Gynecol 23:737.

7. Kamel M.A et al (1994)
Comparison between prolactin, gonadotropins and steroid hormones in serum and follicular fluid after stimulation with gonadotrophin-releasing hormone agonist and human menopausal gonadotrophin for an in-vitro fertilization program.
Hum. Reprod. 9(10):1803-6.

8. Patel D.D. et al (1994).
Plasma prolactin in patients with colorectal cancer. Value in follow-up and as a prognosticator
Cancer 73(3):570-74.

9. Hattori et al (1994).
Effects of anti-prolactin autoantibodies on serum prolactin measurements.
Eur. J. Endocrinol. 130(5):434-7.

10. Suh H.K. et al (1974).
Size heterogeneity of human Prolactin in plasma and pituitary extracts.
J. Clin. Endocrinol Metab 39 : 928-935.

11. Bonhoff A. et al (1995)
Identification of macroprolactin in a patient with asymptomatic hyperprolactinemia as a stable PRL-IgG complex.
Exp. Clin. Endocrinol. 103 : 252-5

XVIII. RESUME DU PROTOCOLE

	ACTIVITE TOTALE (ml)	CALIBRA- TEURS (ml)	ECHANTIL- LON(S) CONTROLES (ml)
Calibrateurs (0-5) Echantillons, Contrôles Traceur	- - 0,2	0,025 - 0,2	- 0,025 0,2
Incubation	2 heures à température ambiante		
Séparation Solution de Lavage Séparation	- - -	Aspiration 2,0 aspiration	
Comptage	Temps de comptage des tubes: 60 secondes		

Numéro de catalogue DIASource: KIP1441 – KIP1444	Numéro de P.I.: 1700465/fr	Numéro de révision : 100813/1
---	-------------------------------	----------------------------------

Lees het hele protocol vóór gebruik.

PRL-IRMA

I. BEOOGD GEBRUIK

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

II. ALGEMENE INFORMATIE

A. **Gedeponeerd handelsmerk:** DIASource PRL-IRMA kit

B. **Catalogusnummer:** KIP1441: 96 testen
KIP1444: 4 x 96 testen

C. **Geproduceerd door:** DIASource ImmunoAssays S.A.
Rue de l'Industrie 8, B-1400 Nivelles, België.

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

Tel.: +32 (0)67 88 99 99 - Fax: +32 (0)67 88 99 96

III. KLINISCHE ACHTERGROND

A. *Biologische activiteiten*

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

B. *Klinische toepassing*

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

IV. *BESCHRIJVING VAN DE METHODE*

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

V. *GELEVERDE REAGENTIA*

Reagentia	Kit met 96 testen	Kit met 4 x 96 testen	Kleur-code	Reconstitutie			
 buizen gecoat met anti-PRL (monoklonale antilichamen)	2 x 48	8 x 48	oranje	Klaar voor gebruik			
<table border="1"><tr><td>Ab</td><td>¹²⁵I</td></tr></table> TRACER: Anti-PRL (monoklonale antilichamen) gelabeld met ¹²⁵ jood in TRIS buffer met bovien serumalbumine, azide (0,5%) en een inerte rode kleurstof	Ab	¹²⁵ I	1 flacon 22 ml 340 kBq	4 flacons 22 ml 4x340 kBq	rood	Klaar voor gebruik	
Ab	¹²⁵ I						
<table border="1"><tr><td>CAL</td><td>0</td></tr></table> Nulkalibrator in bovien serum en thymol	CAL	0	1 flacon gevries-droogd	2 flacons gevries-droogd	geel	2 ml gedestilleerd water toevoegen	
CAL	0						
<table border="1"><tr><td>CAL</td><td>N</td></tr></table> Kalibrator - N = 1 tot 5 (raadpleeg de flaconetiketten voor de exacte waarden) in bovien serum en thymol	CAL	N	5 flacons, gevries-droogd	2 x 5 flacons, gevries-droogd	geel	0,5 ml gedestilleerd water toevoegen	
CAL	N						
<table border="1"><tr><td>WASH</td><td>SOLN</td><td>CONC</td></tr></table> Wasoplossing (Tris-HCl)	WASH	SOLN	CONC	1 flacon 10 ml	4 flacons 10 ml	bruin	70 x met gedestilleerd water verdunnen (gebruik een magnetische roerder).
WASH	SOLN	CONC					
<table border="1"><tr><td>CONTROL</td><td>N</td></tr></table> Controles - N = 1 of 2 in humaan serum en thymol	CONTROL	N	2 flacons, gevries-droogd	2 x 2 flacons, gevries-droogd	zilver	0,5 ml gedestilleerd water toevoegen	
CONTROL	N						

Opmerking: 1. Gebruik de Nulkalibrator voor monsterverdunningen.
 2. 1 ng van de kalibratorbereiding is gelijk aan 29 µIE NIBSC 3rd IS 84/500.
 3. Omrekeningsfactor: ng/ml x 29 = µIE/ml.

VI. *NIET MEEGELEVERDE MATERIALEN*

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

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

VII. *BEREIDING VAN HET REAGENS*

- A. Kalibrators:** Reconstitueer de nulkalibrator met 2 ml gedestilleerd water en de andere kalibrators met 0,5 ml gedestilleerd water.
- B. Controles:** Reconstitueer de controles met 0,5 ml gedestilleerd water.
- C. Werk-wasoplossing:** Bereid een voldoende hoeveelheid werk-wasoplossing door 69 eenheden gedestilleerd water toe te voegen aan 1 eenheid wasoplossing (70 x).
Gebruik een magnetische roerder voor de homogenisering. Op het eind van de dag moet de ongebruikte werk-wasoplossing afgevoerd worden.

VIII. *OPSLAG EN VERVALDATUM VAN REAGENTIA*

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

IX. *MONSTERAFFNAME EN MONSTERBEREIDING*

- Serum en plasma moeten bij 2 tot 8°C bewaard worden.
- Indien de bepaling niet binnen 24 uur uitgevoerd wordt, dan wordt aanbevolen om ze bij -20°C te bewaren.
- Vermijd opeenvolgende cycli van bevriezen en ontdooien
- Gebruik geen gehemolyseerde monsters.
- Serum en plasma (EDTA en heparine) leveren vergelijkbare resultaten op.
 Y (serum) = 1,09x (Hep. plasma) + 0,05 r = 0,95 n = 30
 Y (serum) = 0,96x (EDTA plasma) + 0,14 r = 0,98 n = 30

X. *PROCEDURE*

- A. Opmerkingen bij de procedure**
Gebruik de kit of de componenten niet langer dan de aangegeven vervaldatum. Materialen van kits van verschillende loten mogen niet gemengd worden. Laat alle reagentia op kamertemperatuur komen vóór gebruik.
Meng alle reagentia en monsters goed door ze voorzichtig te bewegen of door er voorzichtig mee te draaien. Om kruisbesmetting te vermijden, moet een propere wegwerpbare pipettip gebruikt worden voor toevoeging van elk reagens en monster.
Pipetten met een grote precisie of geautomatiseerde pipetteerapparatuur zullen de precisie verhogen. Respecteer de incubatietijden.
Bereid een kalibratiecurve voor elke run; men mag geen gegevens gebruiken van voorafgaande runs.

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

XI. *BEREKENING VAN DE RESULTATEN*

- Bereken het gemiddelde voor de bepalingen in duplo.
- Zet de cpm (ordinaat) uit voor elke kalibrator tegen de overeenkomstige PRL -concentratie (abscis) op semi-logaritmisch of lineair millimeterpapier en teken een kalibratiecurve door de kalibratiepunten, waarbij de duidelijke uitschieters verworpen worden.
- Lees door interpolatie de concentratie voor elke controle en voor elk monster op de kalibratiecurve.
- Door computergestuurde gegevensreductie worden deze berekeningen vereenvoudigd.
Indien de resultaten automatisch verwerkt worden, wordt de 4 parameter logistische functie aanbevolen voor de gepaste curve.

XII. KENMERKENDE GEGEVENS

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

PRL-IRMA		cpm	B/T (%)
Totaaltelling		135774	100
Kalibrator	0,0 ng/ml	224	0,16
	2,8 ng/ml	1266	0,93
	9,4 ng/ml	3401	2,5
	30,0 ng/ml	8124	5,98
	80,0 ng/ml	17778	13,09
	133,0 ng/ml	25312	18,64

Detectielimiet: 0,35 tot 133 ng/ml

XIII. EIGENSCHAPPEN EN GRENZEN

- A. Detectielimiet**

Twintig nulkalibrators werden bepaald, samen met een reeks andere kalibrators. De detectielimiet, omschreven als de schijnbare concentratie van twee standaarddeviaties boven de gemiddelde tellingen bij nulbinding, bedroeg 0,35 ng/ml.
- B. Specificiteit**

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

Toegevoegd hormoon	PRL CAL 1 ng/ml	PRL CAL 2 ng/ml
-	2,4	66
LH 300 mIU/ml	2,6	62
FSH 300 mIU/ml	2,5	62
hCG 300000 mIU/ml	2,5	63
hPL 50000 ng/ml	2,9	67
hGH 1000 ng/ml	2,3	68
TSH 300 µIU/ml	2,1	59

PRL-IRMA van DIAsource meet totaal PRL, met andere woorden zowel het actieve prolactine-monomeer als het biologisch niet-actieve macroprolactine (zie referentie 10 en 11). Voor patiënten die met deze kit een verhoogd PRL-niveau vertonen, moet bijkomende informatie worden verkregen om een correcte diagnose te kunnen stellen.

De mogelijk interfererende effecten van 7,5 mg/ml hemoglobine en 0,2 mg/ml bilirubine zijn beoordeeld. De resultaten van deze test tonen geen significante interferentie aan (zie onderstaande tabel).

Monster	Initiële waarde (ng/ml)	Waarde + hemoglobine (ng/ml)	Waarde + bilirubine (ng/ml)
Plasma 1	7,5	7,6	6,8
Plasma 2	40,8	41	38
Serum 1	6,1	6,2	5,6
Serum 2	5,7	5,6	5,5

C. Precisie

BINNEN EEN TEST				TUSSEN TESTEN			
Serum	N	<X> ± SD (ng/ml)	VC (%)	Serum	N	<X> ± SD (ng/ml)	VC (%)
A	10	7,5 ± 0,2	3,3	C	20	7,4 ± 0,7	9,2
B	10	26,6 ± 1,4	5,2	D	20	49,1 ± 2,2	4,5

SD: standaarddeviatie; VC: variatiecoëfficiënt

D. Nauwkeurigheid

RECOVERY –TEST			
Monster	Toegevoegd PRL (ng/ml)	Recovery van PRL (ng/ml)	Recovery (%)
A	2	1,8	90,0
	5	5,0	100,0
	10	9,8	98,0
	20	19,5	97,5
	50	45,6	91,2

VERDUNNINGSTEST			
Monster	Verdunning	Theoretische concentratie (ng/ml)	Concentratie die bepaald werd (ng/ml)
1	1/1	-	192,0
	1/2	96,0	97,0
	1/4	48,0	57,0
	1/8	24,0	30,6
	1/16	12,0	10,3
2	1/1	-	232,0
	1/2	116,0	122,0
	1/4	58,0	65,0
	1/8	29,0	27,4
	1/16	14,5	15,3

De stalen zijn verdund met de nulkalibrator.

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

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

TIJDSPANNE				
	0' (ng/ml)	15' (ng/ml)	30' (ng/ml)	60' (ng/ml)
S 1	5,4	5,8	6,4	6,3
S 2	23,2	22,3	26,8	25,9

- G. "Hook"-effect**

Een serummonster met een concentratie van 18000 ng/ml PRL levert hogere tellingen op dan het laatste kalibratiepunt.

XIV. INTERNE KWALITEITSCONTROLE

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

XV. REFERENTIE-INTERVALS

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

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

Identificatie	aantal subjecten	Gemiddelde (ng/ml)	Bereik (ng/ml)
Mannen	97	4,8	1,8 - 15,9
Pre-menopausale vrouwen	95	8,6	2,7 - 19,7
Post-menopausale vrouwen	47	6,1	1,9 - 17,9

XVI. VOORZORGSMAATREGELEN EN WAARSCHUWINGEN

Veiligheid

Uitsluitend voor in vitro diagnostisch gebruik.

Deze kit bevat ¹²⁵I (halfwaardetijd: 60 dagen) , dat ioniserende X- (28 keV) en γ -stralen (35.5 keV) uitzendt.

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

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

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

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

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

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

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

XVII. BIBLIOGRAFIE

1. Archer D.F. (1977).
Current concepts of prolactin physiology in normal and abnormal conditions.
Fertil Steril 28:125.
2. Laufer N., Botero-Ruiz W., De Chemey A.H., et al. (1984).
Gonadotropin and prolactin levels in follicular fluid of human ova successfully fertilized in vitro.
J. Clin. Endocrinol. Metab. 58:430.
3. Leong D.A., Frawley L.S., Neil J.D. (1983).
Neuroendocrine control of prolactin secretion.
An. Rev. of Physiol. 45:109.
4. Seppala M. (1978).
Prolactin and female reproduction.
An. Clin. Res. 10:164.
5. Taylor T.J., Trouson A, Besanko M., Burger H.G., Stockdale J. (1986).
Plasma progesterone and prolactin changes in superovulated women before, during and immediately after laparoscopy for in vitro fertilisation and their relation to pregnancy
Fertil. Steril 45:680.
6. Tyson J.E. (1980)
Changing role of placental lactogen and prolactin in human gestation.
Clin. Obstet.Gynecol 23:737.
7. Kamel M.A et al (1994)
Comparison between prolactin, gonadotropins and steroid hormones in serum and follicular fluid after stimulation with gonadotrophin-releasing hormone agonist and human menopausal gonadotrophin for an in-vitro fertilization program.
Hum. Reprod. 9(10):1803-6.

8. Patel D.D. et al (1994).
Plasma prolactin in patients with colorectal cancer. Value in follow-up and as a prognosticator
Cancer 73(3):570-74.
9. Hattori et al (1994).
Effects of anti-prolactin autoantibodies on serum prolactin measurements.
Eur. J. Endocrinol. 130(5):434-7.
10. Suh H.K. et al (1974).
Size heterogeneity of human Prolactin in plasma and pituitary extracts.
J. Clin. Endocrinol Metab 39 : 928-935.
11. Bonhoff A. et al (1995)
Identification of macroprolactin in a patient with asymptomatic hyperprolactinemia as a stable PRL-IgG complex.
Exp. Clin. Endocrinol. 103 : 252-5

XVIII. SAMENVATTING VAN HET PROTOCOL

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

DIAsource catalogusnummer: KIP1441 – KIP1444	Nummer van de bijsluiters: 1700465/nl	Revisienummer: 100813/1
---	--	----------------------------

Revisiedatum : 2010-08-13

Vor Gebrauch des Kits lesen Sie bitte diese Packungsbeilage.

PRL-IRMA

I. VERWENDUNGSZWECK

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

II. ALLGEMEINE INFORMATION

- A. **Handelsbezeichnung :** DIAsource PRL-IRMA Kit
- B. **Katalognummer :** KIP1441 : 96 Tests
KIP1444 : 4 x 96 Tests
- C. **Hergestellt von:** DIAsource ImmunoAssays S.A.
Rue de l'Industrie, 8, B-1400 Nivelles, Belgien.

Für technische Unterstützung oder Bestellungen wenden Sie sich bitte an:

Tel : +32 (0)67 88.99.99 Fax : +32 (0)67 88.99.96

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

E-mail Ordering : ordering@diasource.be

III. KLINISCHER HINTERGRUND

A. Biologische Aktivität

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

B. Klinische Anwendung

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

IV. GRUNDSÄTZLICHES ZUR DURCHFÜHRUNG

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

V. MITGELIEFERTE REAGENZIEN

Reagenzien	96 Test Kit	4x96 Test Kit	Farb Code	Rekonstitution			
 Mit anti PRL-beschichtete Röhrchen (monoklonale Antikörper)	2 x 48	8 x 48	orange	gebrauchsfertig			
<table border="1"><tr><td>Ab</td><td>¹²⁵I</td></tr></table> TRACER: ¹²⁵ Iodmarkierter Anti-PRL (monoklonale Antikörper) in TRIS puffer mit Rinderserum- albumin, Azid (0.5%) und inertem roten Farbstoff	Ab	¹²⁵ I	1 Gefäß 22 ml 340 kBq	4 Gefässe 22 ml 4x340 kBq	rot	gebrauchsfertig	
Ab	¹²⁵ I						
<table border="1"><tr><td>CAL</td><td>0</td></tr></table> Null Kalibrator in Rinderserum und Thymol	CAL	0	1 Gefäß lyophil.	2 Gefässe lyophil.	gelb	2 ml dest. Wasser zugeben	
CAL	0						
<table border="1"><tr><td>CAL</td><td>N</td></tr></table> Kalibrator - N = 1 to 5 (genaue Werte auf Gefäß-Etiketten) in Rinderserum und Thymol	CAL	N	5 Gefässe lyophil.	2 x 5 Gefässe lyophil.	gelb	0,5 ml dest. Wasser zugeben	
CAL	N						
<table border="1"><tr><td>WASH</td><td>SOLN</td><td>CONC</td></tr></table> Waschlösung (Tris-HCl)	WASH	SOLN	CONC	1 Gefäß 10 ml	4 Gefässe 10 ml	braun	70 x mit dest. Wasser verdünnen (Magnetrührer benutzen).
WASH	SOLN	CONC					
<table border="1"><tr><td>CONTROL</td><td>N</td></tr></table> Kontrollen - N = 1 or 2 Humanserum und Thymol	CONTROL	N	2 Gefässe lyophil.	2 x 2 Gefässe lyophil.	silber	0.5 ml dest. Wasser zugeben	
CONTROL	N						

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

VI. ZUSÄTZLICH BENÖTIGTES MATERIAL

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

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

VII. VORBEREITUNG DER REAGENZIEN

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

VIII. AUFBEWAHRUNG UND LAGERUNG DER REAGENZIEN

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

IX. PROBENSAMMLUNG UND -VORBEREITUNG

- Serum- und Plasmaproben müssen bei 2-8°C aufbewahrt werden.
- Falls der Test nicht innerhalb von 24 Std. durchgeführt wird, ist die Aufbewahrung bei -20°C erforderlich.
- Vermeiten Sie wiederholtes Einfrieren und Auftauen.
- Keine hämolytischen Proben benutzen
- Serum- oder Plasmaproben (EDTA und heparinisiertes) liefern ähnliche Ergebnisse.
Y (serum) = 1,09x (Hep. plasma) + 0,05 r = 0,95 n = 30
Y (serum) = 0,96x (EDTA plasma) + 0,14 r = 0,98 n = 30

X. DURCHFÜHRUNG

- A. Bemerkungen zur Durchführung**
Verwenden Sie den Kit oder dessen Komponenten nicht nach Ablaufdatum. Vermischen Sie Materialien von unterschiedlichen Kit Chargen nicht. Bringen Sie alle Reagenzien vor der Verwendung auf Raumtemperatur.
Mischen Sie alle Reagenzien und Proben gründlich durch sanftes Schütteln oder Rühren. Verwenden Sie saubere Wegwerf-Pipettenspitzen, um Kreuzkontamination zu vermeiden.
Präzisionspipetten oder ein automatisches Pipettiersystem erhöhen die Präzision. Achten Sie auf die Einhaltung der Inkubationszeiten.
Erstellen Sie für jeden Durchlauf eine Kalibrationskurve, verwenden Sie nicht die Daten von früheren Durchläufen.

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

XI. BERECHNUNG DER ERGEBNISSE

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

XII. TYPISCHE WERTE

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

PRL-IRMA		cpm	B/T (%)
Gesamtaktivität		135774	100
Kalibrator	0,0 ng/ml	224	0,16
	2,8 ng/ml	1266	0,93
	9,4 ng/ml	3401	2,5
	30,0 ng/ml	8124	5,98
	80,0 ng/ml	17778	13,09
	133,0 ng/ml	25312	18,64

Erkennungsbereich : 0,35 bis 133 ng/ml

XIII. LEISTUNGSMERKMALE UND GRENZEN DER METHODIK

A. Nachweisgrenze
Zwanzig Null-Kalibratoren wurden zusammen mit einem Satz anderer Kalibratoren gemessen.
Die Nachweisgrenze, definiert als die scheinbare Konzentration bei zwei Standardabweichungen über dem gemessenen Durchschnittswerts bei Nullbindung, entsprach 0,35 ng/ml.

B. Spezifität

Kreuzreaktive Hormone wurden zu einem minderwertigen und zu einem hochwertigen kalibrator zugegeben. Das Scheinbare hGH Ergebnis wurde gemessen.

Zugeg. Hormon	PRL CAL 1 ng/ml	PRL CAL 2 ng/ml
-	2,4	66
LH 300 mIU/ml	2,6	62
FSH 300 mIU/ml	2,5	62
hCG 300000 mIU/ml	2,5	63
hPL 50000 ng/ml	2,9	67
hGH 1000 ng/ml	2,3	68
TSH 300 µIU/ml	2,1	59

Der DIASource PRL-IRMA misst Gesamt-PRL, das bedeutet sowohl das aktive Prolaktin Monomer, als auch das biologisch inaktive Makroprolaktin (Siehe Referenzen 10 und 11)
Für Patienten die mit diesem Kit einen erhöhten PRL-Spiegel zeigen, sollten zusätzliche Informationen für eine korrekte Diagnose beachtet werden.

Die möglicherweise störenden Effekte von Hämoglobin bei 7,5 mg/ml und Bilirubin bei 0,2 mg/ml wurden evaluiert. Die Ergebnisse dieses Tests zeigen keine signifikante Interferenz (Siehe Tabelle unten)

Probe	Anfangswert (ng/ml)	Wert + Hämoglobin (ng/ml)	Wert + Bilirubin (ng/ml)
Plasma 1	7,5	7,6	6,8
Plasma 2	40,8	41	38
Serum 1	6,1	6,2	5,6
Serum 2	5,7	5,6	5,5

C. Präzision

INTRA ASSAY				INTER ASSAY			
Serum	N	<X> ± SD (ng/ml)	CV (%)	Serum	N	<X> ± SD (ng/ml)	CV (%)
A	10	7,5 ± 0,2	3,3	C	20	7,4 ± 0,7	9,2
B	10	26,6 ± 1,4	5,2	D	20	49,1 ± 2,2	4,5

SD : Standardabweichung; CV: Variationskoeffizient

D. Genauigkeit

WIEDERFINDUNGSTEST			
Probe	Zugeg. PRL (ng/ml)	Wiedergef. PRL (ng/ml)	Wiedergefunden (%)
A	2	1,8	90,0
	5	5,0	100,0
	10	9,8	98,0
	20	19,5	97,5
	50	45,6	91,2

VERDÜNNUNGSTEST			
Probe	Verdünn.	Theoret. Konz. (ng/ml)	Gemess. Konz. (ng/ml)
1	1/1	-	192,0
	1/2	96,0	97,0
	1/4	48,0	57,0
	1/8	24,0	30,6
	1/16	12,0	10,3
2	1/1	-	232,0
	1/2	116,0	122,0
	1/4	58,0	65,0
	1/8	29,0	27,4
	1/16	14,5	15,3

Die Proben wurden mit Null Kalibrator verdünnt.

E. Zeitverzögerung zwischen letzter Kalibrator- und Probenzugabe
Es wird im folgenden gezeigt, dass die Genauigkeit der Tests selbst dann erhalten bleibt, wenn die Probe 60 Minuten nach Zugabe des Kalibrators in die beschichteten Röhrchen zugefügt wird.

ZEITABSTAND				
	0' (ng/ml)	15' (ng/ml)	30' (ng/ml)	60' (ng/ml)
S 1	5,4	5,8	6,4	6,3
S 2	23,2	22,3	26,8	25,9

F. Hookeffekt
Eine Serumprobe mit PRL bis zu 18.000 ng/ml liefert höhere Messwerte als der letzte Kalibratormesswert.

XIV. INTERNE QUALITÄTSKONTROLLE

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

XV. REFERENZ INTERVALLE

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

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

Identifikation	Anz. der Personen	Mittelwert (ng/ml)	Bereich (ng/ml)
Männer	97	4,8	1,8 - 15,9
Prämenopausale Frauen	95	8,6	2,7 - 19,7
Postmenopausale Frauen	47	6,1	1,9 - 17,9

XV. VORSICHTMASSNAHMEN UND WARNUNGEN

Sicherheit

Nur für diagnostische Zwecke.
Dieser Kit enthält ¹²⁵I (Halbwertszeit: 60 Tagen) , das ionisierende X (28 keV) und γ (35.5 keV) Strahlungen emittiert.
Dieses radioaktive Produkt kann nur an autorisierte Personen abgegeben und darf nur von diesen angewendet werden; Erwerb, Lagerung, Verwendung und Austausch radioaktiver Produkte sind Gegenstand der Gesetzgebung des Landes des jeweiligen Endverbrauchers. In keinem Fall darf das Produkt an Menschen oder Tieren angewendet werden.
Der Umgang mit radioaktiven Substanzen sollte fern von Durchgangsverkehr in einem speziell ausgewiesenen Bereich stattfinden. Ein Logbuch für Protokolle und Aufbewahrung muss im Labor sein. Die Laborausüstung und die Glasbehälter, die mit radioaktiven Substanzen kontaminiert werden können, müssen ausgesondert werden, um Kreuzkontaminationen mit unterschiedlichen Radioisotopen zu verhindern. Verschüttete radioaktive Substanzen müssen sofort den Sicherheitsbestimmungen entsprechend entfernt werden. Radioaktive Abfälle müssen entsprechend den lokalen Bestimmungen und Richtlinien der für das Labor zuständigen Behörden gelagert werden. Das Einhalten der Sicherheitsbestimmungen für den Umgang mit radioaktiven Substanzen gewährleistet ausreichenden Schutz.
Die menschlichen Blutkomponenten in diesem Kit wurden mit europäischen und in USA erprobten FDA Methoden getestet, sie waren negativ für HBsAG, anti-HCV und anti-HIV 1 und 2. Keine bekannte Methode kann jedoch vollkommene Sicherheit liefern, dass menschliche Blutbestandteile nicht Hepatitis, AIDS oder andere Infektionen übertragen. Deshalb sollte der Umgang mit Reagenzien, Serum oder Plasmaproben in Übereinstimmung mit den Sicherheitsbestimmungen erfolgen.
Alle tierischen Produkte und deren Derivate wurden von gesunden Tieren gesammelt. Komponenten von Rindern stammen aus Ländern in denen BSE nicht nachgewiesen wurde.
Trotzdem sollten Komponenten, die tierische Substanzen enthalten, als potenziell infektiös betrachtet werden.
Vermeiden Sie Hautkontakt mit den Reagenzien (Natriumazid als Konservierungsmittel). Das Azid in diesem Kit kann mit Blei oder Kupfer in den Abflussrohren reagieren und so hochexplosive Metallazide bilden. Spülen Sie während der Waschschrte den Abfluss gründlich mit viel Wasser, um die Metallazidbildung zu verhindern.
Bitte rauchen, trinken, essen oder wenden Sie Kosmetika nicht in Ihrem Arbeitsbereich an. Pipettieren Sie nicht mit dem Mund. Verwenden Sie Schutzkleidung und Wegwerfhandschuhe.

XVII. LITERATUR

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

2. Laufer N., Botero-Ruiz W., De Chemey A.H., et al. (1984).
Gonadotropin and prolactin levels in follicular fluid of human ova successfully fertilized in vitro.
J. Clin. Endocrinal. Metab. 58:430.

3. Leong D.A., Frawley L.S., Neil J.D. (1983).
Neuroendocrine control of prolactin secretion.
An. Rev. of Physiol. 45:109.

4. Seppala M. (1978).
Prolactin and female reproduction.
An. Clin. Res. 10:164.

5. Taylor T.J., Trouson A, Besanko M., Burger H.G., Stockdale J. (1986).
Plasma progesterone and prolactin changes in superovulated women before, during and immediatemy after laparoscopy for in vitro fertilisation and their relation to pregnancy
Fertil. Steril 45:680.

6. Tyson J.E. (1980)
Changing role of placental lactogen and prolactin in human gestation.
Clin. Obstet.Gynecol 23:737.

7. Kamel M.A et al (1994)
Comparison between prolactin, gonadotropins and steroid hormones in serum and follicular fluid after stimulation with gonadotrophin-releasing hormone agonist and human menopausal gonadotrophin for an in-vitro fertilization program.
Hum. Reprod. 9(10):1803-6.

8. Patel D.D. et al (1994).
Plasma prolactin in patients with colorectal cancer. Value in follow-up and as a prognosticator
Cancer 73(3):570-74.

9. Hattori et al (1994).
Effects of anti-prolactin autoantibodies on serum prolactin mesurements.
Eur. J. Endocrinol. 130(5):434-7.

10. Suh H.K. et al (1974).
Size heterogeneity of human Prolactin in plasma and pituitary extracts.
J. Clin. Endocrinol Metab 39 : 928-935.

11. Bonhoff A. et al (1995)
Identification of macroprolactin in a patient with asymptomatic hyperprolactinemia as a stable PRL-IgG complex.
Exp. Clin. Endocrinol. 103 : 252-5

XVIII.ZUSAMMENFASSUNG DES PROTOKOLLS

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

DIAsource Katalognummer : KIP1441 – KIP1444	Beipackzettelnnummer: 1700465/de	Nummer der Originalausgabe: 100813/1
--	-------------------------------------	--

Διαβάστε ολόκληρο το πρωτόκολλο πριν από τη χρήση.

PRL-IRMA

I. ΧΡΗΣΗ ΓΙΑ ΤΗΝ ΟΠΟΙΑ ΠΡΟΟΡΙΖΕΤΑΙ

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

II. ΓΕΝΙΚΕΣ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΕΣ

- A. Εμπορική ονομασία:** Κιτ PRL-IRMA της DAsource
- B. Αριθμός καταλόγου:** KIP1441: 96 προσδιορισμοί
KIP1444: 4x96 προσδιορισμοί
- Γ. Κατασκευάζεται από την:** DAsource ImmunoAssays S.A.
Rue de l'Industrie 8, B-1400 Nivelles, Belgium.

Για τεχνική βοήθεια ή πληροφορίες σχετικά με παραγγελίες επικοινωνήστε στα:
Τηλ.: +32 (0)67 88.99.99 Fax: +32 (0)67 88.99.96

III. ΚΛΙΝΙΚΟ ΥΠΟΒΑΘΡΟ

A. Βιολογική δράση

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

B. Κλινική εφαρμογή

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

IV. ΒΑΣΙΚΕΣ ΑΡΧΕΣ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

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

V. ΠΑΡΕΧΟΜΕΝΑ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

Αντιδραστήρια	Ποσότητα 96 προσδιορι σμοί	Ποσότητα 4x96 προσδιορι σμοί	Χρωματι κός κωδικός	Ανασύσταση			
 Σωληνάρια επιστρωμένα με anti PRL (μονοκλωνικά)	2 x 48	8 x 48	πορτοκαλ ί	Έτοιμο για χρήση			
<table border="1"><tr><td>Ab</td><td>¹²⁵I</td></tr></table> Αντι-PRL (μονοκλωνικά αντισώματα) σημασμένα με ¹²⁵ I σε ρυθμιστικό διάλυμα TRIS με βόεια ορολευκοματίνη, αζίδιο του νατρίου (0,5%), EDTA και αδρανής κόκκινη χρωστική	Ab	¹²⁵ I	1 φιαλίδιο 22 ml 340 kBq	4 φιαλίδια 22 ml 4x340 kBq	κόκκινο	Έτοιμο για χρήση	
Ab	¹²⁵ I						
<table border="1"><tr><td>CAL</td><td>0</td></tr></table> Μηδενικός βαθμονομητής σε βόειο ορό με θυμόλη	CAL	0	1 φιαλίδιο λυοφιλ.	2 φιαλίδια λυοφιλ.	κίτρινο	Προσθέστε 2,0 ml απεσταγμένου νερού	
CAL	0						
<table border="1"><tr><td>CAL</td><td>N</td></tr></table> Βαθμονομητές 1-5 σε βόειο ορό με θυμόλη (δείτε ακριβείς τιμές πάνω στις ετικέτες των φιαλιδίων)	CAL	N	5 φιαλίδια λυοφιλ.	2 x 5 φιαλίδια λυοφιλ.	κίτρινο	Προσθέστε 0,5 ml απεσταγμένου νερού	
CAL	N						
<table border="1"><tr><td>WASH</td><td>SOLN</td><td>CONC</td></tr></table> Διάλυμα πλύσης (TRIS- HCl)	WASH	SOLN	CONC	1 φιαλίδιο 10 ml	4 φιαλίδια 10 ml	καφέ	Αραιώστε 70 x με απεσταγμένο νερό (χρησιμοποιήστε μαγνητικό αναδευτήρα).
WASH	SOLN	CONC					
<table border="1"><tr><td>CONTROL</td><td>N</td></tr></table> Οροί ελέγχου 1 και 2 σε ανθρώπινο ορό με θυμόλη	CONTROL	N	2 φιαλίδια λυοφιλ.	2 x 2 φιαλίδια λυοφιλ.	ασημί	Προσθέστε 0,5 ml απεσταγμένου νερού	
CONTROL	N						

Σημείωση: 1. Χρησιμοποιείτε το μηδενικό βαθμονομητή για αραιώσεις ορών.
2. 1 ng του παρασκευάσματος βαθμονομητή είναι ισοδύναμο με 29 mIU NIBSC 3rd IS 84/500.
3. Συντελεστής μετατροπής: ng/ml x 29= μUI / ml

VI. ΑΝΑΛΩΣΙΜΑ ΠΟΥ ΔΕΝ ΠΑΡΕΧΟΝΤΑΙ

Τα ακόλουθα υλικά απαιτούνται αλλά δεν παρέχονται στο κιτ:

1. Απεσταγμένο νερό
2. Πιπέτες για διανομή: 25 μl, 200 μl, 500 μl και 2 ml (συνιστάται η χρήση πιπετών ακρίβειας με αναλώσιμα πλαστικά ρύγχη).
3. Αναμεικτής στροβιλισμού (τύπου vortex)
4. Μαγνητικός αναδευτήρας
5. Αυτόματη σύριγγα των 5 ml (τύπου Cornwall) για πλύση
6. Σύστημα αναρρόφησης (προαιρετικό).
7. Μπορεί να χρησιμοποιηθεί οποιοσδήποτε μετρητής γ ακτινοβολίας με δυνατότητα μέτρησης της ¹²⁵I (ελάχιστη απόδοση 70%).

VII. ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΟΥ

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

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

VIII. ΦΥΛΑΞΗ ΚΑΙ ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΛΗΞΗΣ ΤΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

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

IX. ΣΥΛΛΟΓΗ ΚΑΙ ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ

- § Ο ορός και το πλάσμα πρέπει να φυλάσσονται σε θερμοκρασία 2-8° C.
- § Εάν η εξέταση δεν πραγματοποιηθεί εντός 24 ωρών, συνιστάται η φύλαξη στους -20° C.
- § Αποφεύγετε τους επακόλουθους κύκλους κατάψυξης-απόψυξης.
- § Μην χρησιμοποιείτε δείγματα που έχουν υποστεί αιμόλυση.
- § Ο ορός ή το πλάσμα (EDTA και ηπαρίνη) παρέχουν παρόμοια αποτελέσματα.
- Y (ορός) = 1,09 x (ηπαρ. πλάσμα) + 0,05 r = 0,95 n = 30
Y (ορός) = 0,96 x (πλάσμα με EDTA) + 0,14 r = 0,98 n = 30

X. ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

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

- B. Διαδικασία**
1. Σημάνετε επιστρωμένα σωληνάρια εις διπλούν για κάθε βαθμονομητή, ορό ελέγχου και δείγμα. Για τον προσδιορισμό των μετρήσεων του ιχνηθέτη ¹²⁵I ("total"), σημάνετε 2 κοινά (μη επιστρωμένα) σωληνάρια.
 2. Αναμείξτε για λίγο (με αναμεικτή στροβιλισμού τύπου vortex) βαθμονομητές, δείγματα και ορούς ελέγχου και διανείμετε 25 μl από έκαστο στα αντίστοιχα σωληνάρια.
 3. Διανείμετε 200 μl ιχνηθέτη αντι-PRL-¹²⁵I σε κάθε σωληνάριο, συμπεριλαμβανοντας τα μη επιστρωμένα σωληνάρια για τις μετρήσεις του ιχνηθέτη ¹²⁵I ("total").
 4. Ανακινήστε απαλά με το χέρι τη βάση στήριξης των σωληναρίων για να απελευθερώσετε τυχόν παγιδευμένες φυσαλίδες αέρα.
 5. Επωάστε επί 2 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου.
 6. Αναρροφήστε (ή μεταγγίστε) το περιεχόμενο κάθε σωληναρίου (με εξαίρεση εκείνα που αφορούν τις μετρήσεις του ιχνηθέτη ¹²⁵I ["total"]). Βεβαιωθείτε ότι το πλαστικό ρύγχος του αναρροφητή φθάνει στον πυθμένα του επιστρωμένου σωληναρίου προκειμένου να αφαιρεθεί όλη η ποσότητα του υγρού.
 7. Πλύνετε τα σωληνάρια με 2 ml διαλύματος πλύσης εργασίας (με εξαίρεση εκείνα που αφορούν τις μετρήσεις του ιχνηθέτη ¹²⁵I ["total"]). Αποφύγετε το σχηματισμό αφρού κατά τη διάρκεια της προσθήκης του διαλύματος πλύσης εργασίας.
 8. Αναρροφήστε (ή μεταγγίστε) το περιεχόμενο κάθε σωληναρίου (με εξαίρεση εκείνα που αφορούν τις μετρήσεις του ιχνηθέτη ¹²⁵I ["total"]).
 9. Αφήστε τα σωληνάρια να σταθούν σε όρθια θέση για δύο λεπτά και αναρροφήστε τη σταγόνα υγρού που απομένει.
 10. Μετρήστε τα σωληνάρια σε μετρητή γ ακτινοβολίας για 60 δευτερόλεπτα.

XI. ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

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

XII. ΤΥΠΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ

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

PRL-IRMA		cpm	B/T (%)
Κρούσεις του ιχνηθέτη ¹²⁵ I ("total")		135774	100
Βαθμονομητής	0,0 ng/ml	224	0,16
	2,8 ng/ml	1266	0,93
	9,4 ng/ml	3401	2,5
	30,0 ng/ml	8124	5,98
	80,0 ng/ml	17778	13,09
	133,0 ng/ml	25312	18,64

Εύρος ανίχνευσης: 0.35 έως 133 ng/ml

XIII. ΑΠΟΔΟΣΗ ΚΑΙ ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ

- A. Όριο ανίχνευσης**
 Μετρήθηκαν είκοσι μηδενικοί βαθμονομητές μαζί με ένα σύνολο άλλων βαθμονομητών. Το όριο ανίχνευσης, οριζόμενο ως η φαινομενική συγκέντρωση δύο τυπικών αποκλίσεων πάνω από τις μέσες μετρήσεις σε μηδενική δέσμευση, ήταν 0,35 ng/ml.
- B. Ειδικότητα**
 Ορμόνες διασταυρούμενης αντιδραστικότητας προστέθηκαν σε ένα βαθμονομητή χαμηλής και υψηλής τιμής PRL. Μετρήθηκε η φαινομενική απόκριση της PRL.

	PRL CAL 1 ng/ml	PRL CAL 2 ng/ml
Προσθεθείσα ορμόνη		
-	2,4	66
LH 300 mIU/ml	2,6	62
FSH 300 mIU/ml	2,5	62
hCG 300000 mIU/ml	2,5	63
hPL 50000 ng/ml	2,9	67
hGH 1000 ng/ml	2,3	68
TSH 300 μIU/ml	2,1	59

Το DIASource PRL-IRMA μετρά την ολική PRL, δηλαδή τόσο το ενεργό μονομερές της προλακτίνης, όσο και τη βιολογικά ανενεργή μακροπρολακτίνη (βλ. βιβλιογραφικές αναφορές 10 και 11). Για ασθενείς που εμφανίζουν αυξημένο επίπεδο PRL με αυτό το kit, θα πρέπει να ληφθούν πρόσθετες πληροφορίες για τη σωστή διάγνωση.

Οι δυνητικές επιδράσεις παρεμβολής της αιμοσφαιρίνης στα 7,5 mg/ml και της χολερυθρίνης στα 0,2 mg/ml έχουν αξιολογηθεί. Τα αποτελέσματα αυτής της εξέτασης δεν δείχνουν σημαντική παρεμβολή (βλ. παρακάτω πίνακα).

Δείγμα	Αρχική τιμή (ng/ml)	Τιμή + Αιμοσφαιρίνη (ng/ml)	Τιμή + Χολερυθρίνη (ng/ml)
Πλάσμα 1	7,5	7,6	6,8
Πλάσμα 2	40,8	41	38
Ορός 1	6,1	6,2	5,6
Ορός 2	5,7	5,6	5,5

Γ. Ακρίβεια

ΓΙΑ ΤΟΝ ΙΔΙΟ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟ				ΜΕΤΑΞΥ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΩΝ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΩΝ			
Ορός	N	<X> ± T.A. (ng/ml)	Σ.Δ. (%)	Ορός	N	<X> ± T.A. (ng/ml)	Σ.Δ. (%)
A	10	7,5 ± 0,2	3,3	Γ	20	7,4 ± 0,7	9,2
B	10	26,6 ± 1,4	5,2	Δ	20	49,1 ± 2,2	4,5

Δ. Ορθότητα

ΔΟΚΙΜΑΣΙΑ ΑΝΑΚΤΗΣΗΣ			
Δείγμα	Προσθεθείσα PRL (ng/ml)	Ανακτηθείσα PRL (ng/ml)	Ανάκτηση (%)
A	2	1,8	90,0
	5	5,0	100,0
	10	9,8	98,0
	20	19,5	97,5
	50	45,6	91,2

ΔΟΚΙΜΑΣΙΑ ΑΡΑΙΩΣΗΣ

Δείγμα	Αραίωση	Θεωρητική συγκέντρωση (ng/ml)	Μετρηθείσα συγκέντρωση (ng/ml)
1	1/1	-	192,0
	1/2	96,0	97,0
	1/4	48,0	57,0
	1/8	24,0	30,6
	1/16	12,0	10,3
2	1/1	-	232,0
	1/2	116,0	122,0
	1/4	58,0	65,0
	1/8	29,0	27,4
	1/16	14,5	15,3

Τα δείγματα αραιώθηκαν με μηδενικό βαθμονομητή.

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

ΜΕΣΟΔΙΑΣΤΗΜΑ

	0' (ng/ml)	15' (ng/ml)	30' (ng/ml)	60' (ng/ml)
Ορός 1	5,4	5,8	6,4	6,3
Ορός 2	23,2	22,3	26,8	25,9

- ΣΤ. Φαινόμενο αγκίστρου (hook)**
 Δείγμα ορού με συγκέντρωση PRL 18000 ng/ml δίνει σήμα πάνω από την υψηλότερη συγκέντρωση του βαθμονομητή.

XIV. ΕΣΩΤΕΡΙΚΟΣ ΠΟΙΟΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ

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

XV. TIMEΣ ΑΝΑΦΟΡΑΣ

Οι τιμές παρέχονται πιο κάτω μόνον ως οδηγός. Κάθε εργαστήριο θα πρέπει να καθιερώσει το δικό του πεδίο φυσιολογικών τιμών.
Οι συγκεντρώσεις της PRL μετρήθηκαν σε δείγματα ορού που ελήφθησαν από διαφορετικές κατηγορίες υγιών υποκειμένων.

Ταυτοποίηση	Αριθμός ατόμων	Μέση τιμή (ng/ml)	Πεδίο τιμών (ng/ml)
Ανδρες	97	4,8	1,8 - 15,9
Προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες	95	8,6	2,7 - 19,7
Μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες	47	6,1	1,9 - 17,9

XVI. ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ ΚΑΙ ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΕΙΣ

Ασφάλεια
Μόνο για διαγνωστική χρήση in vitro.
Το kit αυτό περιέχει το ¹²⁵I (Χρόνος ημιζωής: 60 ημέρες), μια ραδιενεργή ουσία η οποία εκπέμπει ιονίζουσα ακτινοβολία Χ (28 keV) και γ (35.5 keV). Αυτό το ραδιενεργό προϊόν είναι δυνατό να μεταφερθεί και να χρησιμοποιηθεί μόνο από εξουσιοδοτημένα άτομα. Η αγορά, φύλαξη, χρήση και ανταλλαγή ραδιενεργών προϊόντων υπόκεινται στη νομοθεσία της χώρας του τελικού χρήστη. Σε καμία περίπτωση δεν πρέπει να χορηγείται το προϊόν σε ανθρώπους ή ζώα.
Όλος ο χειρισμός του ραδιενεργού υλικού θα πρέπει να εκτελείται σε καθορισμένο χώρο, μακριά από χώρους τακτικής διέλευσης. Στο εργαστήριο πρέπει να διατηρείται ημερολόγιο για την παραλαβή και τη φύλαξη ραδιενεργών υλικών. Εξοπλισμός και γυάλινα σκεύη του εργαστηρίου, τα οποία θα μπορούσαν να μολυνθούν με ραδιενεργές ουσίες, θα πρέπει να φυλάσσονται σε ξεχωριστό χώρο για την πρόληψη επιμόλυνσης των διαφόρων ραδιοϊσοτόπων. Τυχόν διαρροές ραδιενεργών υγρών πρέπει να καθαρίζονται αμέσως σύμφωνα με τις διαδικασίες ασφάλειας από ραδιενέργεια. Τα ραδιενεργά απόβλητα πρέπει να απορρίπτονται σύμφωνα με τους τοπικούς κανονισμούς και τις κατευθυντήριες οδηγίες των αρχών που έχουν δικαιοδοσία στο εργαστήριο. Η τήρηση των βασικών κανόνων ασφάλειας από ραδιενέργεια παρέχει επαρκή προστασία. Τα συστατικά ανθρώπινου αίματος που περιλαμβάνονται στο kit αυτό έχουν ελεγχθεί με μεθόδους εγκεκριμένες στην Ευρώπη ή/και από τον FDA και έχει διαπιστωθεί ότι είναι αρνητικά ως προς την παρουσία HBsAg, αντι-HCV, αντι-HIV-1 και 2. Καμία γνωστή μέθοδος δεν είναι δυνατό να παρέχει πλήρη διασφάλιση ότι παράγωγα του ανθρώπινου αίματος δε θα μεταδώσουν ηπατίτιδα, AIDS ή άλλες λοιμώξεις. Επομένως, ο χειρισμός αντιδραστηρίων, δειγμάτων ορού ή πλάσματος θα πρέπει να γίνεται σύμφωνα με τις τοπικές διαδικασίες περί ασφάλειας.
Όλα τα ζωικά προϊόντα και παράγωγα έχουν συλλεχθεί από υγιή ζώα. Τα βόεια συστατικά προέρχονται από χώρες όπου δεν έχει αναφερθεί BSE. Παρ' όλ' αυτά, συστατικά που περιέχουν ζωικές ουσίες θα πρέπει να αντιμετωπίζονται ως δυνητικώς μολυσματικά.

Αποφεύγετε οποιαδήποτε επαφή του δέρματος με αντιδραστήρια (χρησιμοποιείται αζίδιο του νατρίου ως συντηρητικό). Το αζίδιο στο kit αυτό ενδέχεται να αντιδράσει με μολυβδό και χαλκό των υδραυλικών σωληνώσεων και να σχηματίσει με τον τρόπο αυτό ιδιαίτερα εκρηκτικά αζίδια μετάλλων. Κατά τη διάρκεια του βήματος πλύσης, εκπλύνετε την αποχέτευση με μεγάλη ποσότητα νερού, για την πρόληψη τυχόν συσώρευσης αζιδίου. Μην καπνίζετε, μην πίνετε, μην τρώτε και μη χρησιμοποιείτε καλλυντικά στο χώρο εργασίας. Μην διανέμετε με πιπέτα χρησιμοποιώντας το στόμα σας. Χρησιμοποιείτε προστατευτικό ρουχισμό και γάντια μιας χρήσης.

XVII. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

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

2. Laufer N., Botero-Ruiz W., De Chemey A.H., et al. (1984).
Gonadotropin and prolactin levels in follicular fluid of human ova successfully fertilized in vitro.
J. Clin. Endocrinol. Metab. 58:430.

3. Leong D.A., Frawley L.S., Neil J.D. (1983).
Neuroendocrine control of prolactin secretion.
An. Rev. of Physiol. 45:109.

4. Seppala M. (1978).
Prolactin and female reproduction.
An. Clin. Res. 10:164.

5. Taylor T.J., Trouson A, Besanko M., Burger H.G., Stockdale J. (1986).
Plasma progesterone and prolactin changes in superovulated women before, during and immediately after laparoscopy for in vitro fertilisation and their relation to pregnancy
Fertil. Steril 45:680.

6. Tyson J.E. (1980)
Changing role of placental lactogen and prolactin in human gestation.
Clin. Obstet.Gynecol 23:737.

7. Kamel M.A et al (1994)
Comparison between prolactin, gonadotropins and steroid hormones in serum and follicular fluid after stimulation with gonadotrophin-releasing hormone agonist and human menopausal gonadotrophin for an in-vitro fertilization program.
Hum. Reprod. 9(10):1803-6.

8. Patel D.D. et al (1994).
Plasma prolactin in patients with colorectal cancer. Value in follow-up and as a prognosticator
Cancer 73(3):570-74.

9. Hattori et al (1994).
Effects of anti-prolactin autoantibodies on serum prolactin measurements.
Eur. J. Endocrinol. 130(5):434-7.

10. Suh H.K. et al (1974).
Size heterogeneity of human Prolactin in plasma and pituitary extracts.
J. Clin. Endocrinol Metab 39 : 928-935.

11. Bonhoff A. et al (1995)
Identification of macroprolactin in a patient with asymptomatic hyperprolactinemia as a stable PRL-IgG complex.
Exp. Clin. Endocrinol. 103 : 252-5

XVIII. ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΤΟΥ ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟΥ

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

Αρ. καταλόγου DIASource: KIP1441 - KIP1444	Αριθμός P.I.: 1700465/el	Ημερομηνία έκδοσης: 100813/1
---	-----------------------------	---------------------------------



Przed użyciem zapoznaj się z treścią instrukcji.

PRL-IRMA

I. PRZEZNACZENIE

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

II. INFORMACJE OGÓLNE

- A. Nazwa zestawu: DIAsource PRL-IRMA Kit
- B. Numer katalogowy: KIP1441: 96 oznaczeń
KIP1444: 4x96 oznaczeń
- C. Producent: DIAsource ImmunoAssays S.A.
Rue de l'Industrie 8, B-1400 Nivelles, Belgium.

W celu uzyskania pomocy technicznej lub informacji odnośnie zamówień prosimy o kontakt:

Tel: +32 (0)67 88.99.99

Fax: +32 (0)67 88.99.96

III. ZASTOSOWANIE KLINICZNE

A. Aktywność biologiczna

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

B. Zastosowanie kliniczne

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

IV. ZASADA DZIAŁANIA TESTU

DIAsource PRL-IRMA jest testem immunoradiometrycznym opartym na separacji próbek opłaszczonych przeciwciałami. Mabs1. Przeciwciała te są przytwierdzone do dolnej, wewnętrznej powierzchni plastikowej próbówki. Do próbek dodaje się kalibratory lub badane próbki, wykazujące niskie powinowactwo do Mab 1. Dodanie drugiego przeciwciała Mab 2 anty PRL znakowanego ¹²⁵I powoduje rozpoczęcie reakcji immunologicznej i utworzenie kompleksu typu sandwich: Mab1/cząsteczka PRL/Mab2.

Po inkubacji usuwa się nadmiar antygeny, próbówki się przepłukuje i mierzy się związaną z próbkami aktywność, będącą miarą stężenia dodanego antygeny. Użycie kilku różnych przeciwciał Mabs pozwala uniknąć nadmiernej specyficzności.

V. SKŁAD ZESTAWU

Odczynniki	ilość 96 oznaczeń	ilość 4x96 oznaczeń	kolor odczynnika	Rozcieńczanie
Próbówki opłaszczone przeciwciałami przeciw PRL (przeciwciała monoklonalne)	2 x 48	8 x 48	pomarańczowy	gotowe do użycia
Ab ¹²⁵I Przeciwciała Anti-PRL-¹²⁵I (przeciwciała monoklonalne) w Buforze TRIS z albuminą surowicy wołowej, azydkiem sodu (0.5 %) oraz obojętnym czerwonym barwnikiem	1 fiolka 22 ml 340 kBq	4 fiolki 22 ml 4x340 kBq	czerwony	gotowe do użycia
CAL 0 Kalibrator zerowy w surowicy wołowej z tymolem	1 fiolka liofilizat	2 fiolki liofilizat	żółty	Dodać 2,0 ml wody destylowanej
CAL N Kalibratory 1-5 w surowicy wołowej z tymolem (patrz: dokładne wartości na etykietach fiolek)	5 fiolki liofilizat	2 x 5 fiolki liofilizat	żółty	Dodać 0,5 ml wody destylowanej
WASH SOLN CONC Roztwór płuczący (TRIS-HCl)	1 fiolka 10 ml	4 fiolki 10 ml	brązowy	Rozcieńczyć 70 x w wodzie destylowanej (użyć mieszałki magnetycznej)
CONTROL N Kontrola 1 i 2 w surowicy ludzkiej z tymolem	2 fiolki liofilizat	2 x 2 fiolki liofilizat	srebrny	Dodać 0,5 ml wody destylowanej

Uwaga: Do rozcieńczania surowic używać kalibratora 0.
1 ng kalibratora odpowiada 29 µIU NIBSC 3rd IRP 84/500.
Współczynnik konwersji : :ng/ml x 29= µUI / ml

VI. DODATKOWE MATERIAŁY I WYPOSAŻENIE

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

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

VII. PRZYGOTOWANIE ODCZYNNIKÓW

- A. **Kalibratory:** Do kalibratora zero dodać 2 ml wody destylowanej, do pozostałych dodać po 0,5 ml wody destylowanej.
- B. **Kontrola:** Dodać do każdej po 0,5 ml wody destylowanej.
- C. **Roztwór płuczący:** Rozcieńczyć roztwór płuczący: zmieszać 1 część roztworu płuczącego z 69 częściami wody destylowanej (rozcieńczenie 70-krotne). W celu wymieszania użyć mieszałki magnetycznej lub homogenizatora. Pod koniec dnia roboczego nieużyty płyn wylać.

VIII. PRZECHOWYWANIE ORAZ OKRES WAŻNOŚCI ODCZYNNIKÓW I PRÓBEK

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

IX. PRZYGOTOWANIE I PRZECHOWYWANIE PRÓBEK

- § Surowica i osocze powinny być przechowywane w temp. 2-8°C.
- § Jeżeli test nie będzie wykonywany w ciągu 24 godzin, zaleca się zamrożenie próbek w temp. -20°C.
- § Unikać wielokrotnego rozmrażania i zamrażania próbek.
- § Oznaczenia w surowicy, heparynizowanym osoczu i osoczu z EDTA dają podobne wyniki
Y (surowica) = 1,09x (osocze heparynizowane) + 0,05 r = 0,95 n = 30
Y (serum) = 0,96x (osocze EDTA) + 0,14 r = 0,98 n = 30

X. PROCEDURA

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

B. Procedura

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

XI. OBLICZANIE WYNIKÓW

- 1. Policzyc wartości średnie z dubletów.
- 2. Na papierze o skali półlogarytmicznej lub liniowej wykreślić krzywą dla każdego kalibratora: aktywność c.p.m. (oś rzędnych) względem odpowiednich stężeń PRL (oś odciętych), po czym poprowadzić krzywą wzorcową przez punkty kalibracji, odrzucić wyniki krańcowe.

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

XII. PRZYKŁAD TYPOWEJ KRZYWEJ WZORCOWEJ

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

PRL-IRMA		cpm	B/T (%)
Ilość zliczeń TOTAL		135774	100
Kalibratory	0,0 ng/ml	224	0,16
	2,8 ng/ml	1266	0,93
	9,4 ng/ml	3401	2,5
	30,0 ng/ml	8124	5,98
	80,0 ng/ml	17778	13,09
	133,0 ng/ml	25312	18,64

Zakres detekcji : 0.35 do 133 ng/ml

XIII. CHARAKTERYSTYKA OZNACZENIA I OGRANICZENIA

A. Czulość zestawu

Czulość zestawu zdefiniowana jako wartość stężenia PRL odpowiadająca wartości dwóch odchyłeń standardowych dla kalibratora zero (określonych na podstawie 20 różnych oznaczeń) wynosi 0,35 ng/ml.

B. Specyficzność

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

Dodany hormon	PRL CAL 1 ng/ml	PRL CAL 2 ng/ml
-	2,4	66
LH 300 mIU/ml	2,6	62
FSH 300 mIU/ml	2,5	62
hCG 300000 mIU/ml	2,5	63
hPL 50000 ng/ml	2,9	67
hGH 1000 ng/ml	2,3	68
TSH 300 µIU/ml	2,1	59

W teście DIAsource PRL-IRMA oznaczana jest prolaktyna (PRL) całkowita, czyli zarówno aktywny monomer prolaktyny, jak i biologicznie nieaktywna makroprolaktyna (patrz piśmiennictwo, pozycje 10 i 11).
W przypadku pacjentów, którzy w tym teście (zestawie) wykazują podwyższony poziom PRL, w celu postawienia prawidłowego rozpoznania konieczne jest uzyskanie dodatkowych informacji.

Określono potencjalne interferencje spowodowane hemoglobina ą o stężeniu 7,5 mg/ml i bilirubina ą w stężeniu 0,2 mg/ml. Wyniki tego testu nie wykazują żadnych znaczących interferencji (patrz poniższa tabela).

Próbka	Wartość początkowa (ng/ml)	Wartość + hemoglobina (ng/ml)	Wartość + bilirubina (ng/ml)
Osocze 1	7,5	7,6	6,8
Osocze 2	40,8	41	38
Surowica 1	6,1	6,2	5,6
Surowica 2	5,7	5,6	5,5

C. Precyzja

zmienność międzyseryjna				zmienność międzyseryjna			
Surowica	Replik at	<X> ± S.D. (ng/ml)	CV (%)	Surowica	Replik at	<X> ± S.D. (ng/ml)	CV (%)
A	10	7,5 ± 0,2	3,3	C	20	7,4 ± 0,7	9,2
B	10	26,6 ± 1,4	5,2	D	20	49,1 ± 2,2	4,5

SD: odchylenie standardowe; CV: współczynnik zmienności

D. Dokładność

ODZYSK			
Próbka	Dodane PRL (ng/ml)	Odzyskane PRL (ng/ml)	Odzysk (%)
A	2	1,8	90,0
	5	5,0	100,0
	10	9,8	98,0
	20	19,5	97,5
	50	45,6	91,2

TEST ROZCIEŃCZANIA			
Próbka	Proporcja	Stężenie teoretyczne (ng/ml)	Stężenie zmierzone (ng/ml)
1	1/1	-	192,0
	1/2	96,0	97,0
	1/4	48,0	57,0
	1/8	24,0	30,6
	1/16	12,0	10,3
2	1/1	-	232,0
	1/2	116,0	122,0
	1/4	58,0	65,0
	1/8	29,0	27,4
	1/16	14,5	15,3

Próbki rozcieńczono za pomocą kalibratora zerowego.

E. Przesunięcie czasowe w trakcie dozowania

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

CZAS PRZESUNIĘCIA				
	0' (ng/ml)	15' (ng/ml)	30' (ng/ml)	60' (ng/ml)
Próbka 1	5,4	5,8	6,4	6,3
Próbka 2	23,2	22,3	26,8	25,9

F. Efekt wysokich dawek (Hook effect)

Próbki o stężeniu PRL do 18000 pg/ml dają odczyt powyżej wartości ostatniego kalibratora.

XIV. WEWNĘTRZNA KONTROLA JAKOŚCI

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

XV. ZAKRES NORMY

Każde laboratorium powinno ustalić własne zakresy normy. Normy podane poniżej należy traktować jako wskazówkę
Stężenia PRL zostały zmierzone w próbkach surowicy otrzymanej od zdrowych osobników z różnych kategorii.

Identyfikacja	Liczba osobników	Średnia (ng/ml)	Zakres (ng/ml)
Mężczyźni	97	4,8	1,8 - 15,9
Kobiety przed menopauzą	95	8,6	2,7 - 19,7
Kobiety po menopauzie	47	6,1	1,9 - 17,9

XVI. OSTRZEŻENIA I ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

Bezpieczeństwo

Zestaw jest przeznaczony jedynie do diagnostyki in vitro. Zestaw zawiera ¹²⁵I (Okres połowicznego rozpadu: 60 dni), emitujący promieniowanie jonizujące X (28 keV) i γ (35.5 keV). Przestrzeganie podstawowych zasad ochrony radiologicznej gwarantuje bezpieczeństwo. Produkty radioaktywne mogą być nabywane, otrzymywane, przechowywane i używane jedynie przez osoby do tego upoważnione oraz w laboratoriach posiadających odpowiednią autoryzację. Roztwory w żadnym przypadku nie mogą być podawane ludziom ani zwierzętom. Zasady stosowania produktów radioaktywnych regulują przepisy danego kraju. Materiały promieniotwórcze można wykorzystywać w obszarach specjalnie do tego przeznaczonych. Laboratorium powinno prowadzić dziennik przechowywanych materiałów promieniotwórczych. Aparatura laboratoryjna oraz wyroby szklane, które mogą ulec skażeniu przez materiały promieniotwórcze, powinny zostać oddzielone, w celu uniknięcia ich skażenia. Każdy wyciek radioaktywny należy natychmiast zmyć zgodnie z lokalną procedurą bezpieczeństwa promieniotwórczego. Odpady radioaktywne należy usuwać zgodnie z przepisami prawnymi obowiązującymi w danym państwie. Postępowanie wg podstawowych zasad bezpieczeństwa radioaktywnego zapewnia wystarczającą ochronę. Odczynniki zestawu zawierające składniki pochodzenia ludzkiego zostały przetestowane licencjonowanymi zestawami (sprawdzone metodami Europejskimi zatwierdzone przez FDA) i wykluczono obecność przeciwciał anti-HIV 1, anti-HIV 2, anti- HCV i antygenu HBs. Mimo to nie ma jednak pełnej gwarancji, że takie składniki nie mogą przenosić żółtaczkzi, wirusów HIV czy innych infekcji wirusowych – dlatego też zarówno te odczynniki, jak i próbki pacjentów należy traktować jako potencjalne źródło zakażenia. Składniki pochodzenia zwierzęcego w odczynnikach zestawu, zostały pobrane od zwierząt zdrowych. Składniki pochodzenia wołowego pochodzą z państw, gdzie nie stwierdzono przypadków zarażenia BSE. Mimo to, wszystkie próbki pochodzenia zwierzęcego należy traktować jako potencjalnie zakażne. Unikać kontaktu ze skórą jakiegokolwiek z odczynników (azydek sodu jako konserwant). Azydek sodu może reagować z ołowianymi lub miedzianymi rurami, w wyniku czego mogą odkładać się na nich wybuchowe azydki metali. Aby temu zapobiec należy po wylaniu odpadów dobrze przepłukać rury kanalizacyjne. Nie palić, nie jeść, nie pić ani nie używać kosmetyków w obszarze pracy. Nie pipetować ustami. Zakładać odzież ochronną i gumowe rękawiczki.

XVII. BIBLIOGRAFIA

- Archer D.F. (1977).
Current concepts of prolactin physiology in normal and abnormal conditions.
Fertil Steril 28:125.
- Laufer N., Botero-Ruiz W., De Chemey A.H., et al. (1984).
Gonadotropin and prolactin levels in follicular fluid of human ova successfully fertilized in vitro.
J. Clin. Endocrinal. Metab. 58:430.
- Leong D.A., Frawley L.S., Neil J.D. (1983).
Neuroendocrine control of prolactin secretion.
An. Rev. of Physiol. 45:109.
- Seppala M. (1978).
Prolactin and female reproduction.
An. Clin. Res. 10:164.
- Taylor T.J., Trouson A, Besanko M., Burger H.G., Stockdale J. (1986).
Plasma progesterone and prolactin changes in superovulated women before, during and immediatemy after laparoscopy for in vitro fertilisation and their relation to pregnancy
Fertil. Steril 45:680.
- Tyson J.E. (1980)
Changing role of placental lactogen and prolactin in human gestation.
Clin. Obstet.Gynecol 23:737.

- Kamel M.A et al (1994)
Comparison between prolactin, gonadotropins and steroid hormones in serum and follicular fluid after stimulation with gonadotrophin-releasing hormone agonist and human menopausal gonadotrophin for an in-vitro fertilization program.
Hum. Reprod. 9(10):1803-6.
- Patel D.D. et al (1994).
Plasma prolactin in patients with colorectal cancer. Value in follow-up and as a prognosticator
Cancer 73(3):570-74.
- Hattori et al (1994).
Effects of anti-prolactin autoantibodies on serum prolactin mesurements.
Eur. J. Endocrinol. 130(5):434-7.
- Suh H.K. et al (1974).
Size heterogeneity of human Prolactin in plasma and pituitary extracts.
J. Clin. Endocrinol Metab 39 : 928-935.
- Bonhoff A. et al (1995)
Identification of macroprolactin in a patient with asymptomatic hyperprolactinemia as a stable PRL-IgG complex.
Exp. Clin. Endocrinol. 103 : 252-5

XVIII. SCHEMAT PROCEDURE

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

DIAsource Katalog Nr: KIP1441 - KIP1444	Numer P.I.: 1700465/pl	Data wydania: 100813/1
--	---------------------------	---------------------------

Data wydania : 2010-08-13



Прочетете целия протокол преди употреба

PRL-IRMA

I. УПОТРЕБА

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

II. ОБЩА ИНФОРМАЦИЯ

A. Патентовано име:	DIAsource PRL-IRMA Kit	
B. Каталожен номер:	KIP1441:	96 теста
	KIP1444:	4 x 96 теста
C. Произведено от:	DIAsource ImmunoAssays S.A. Rue De l'Industrie 8 B-1400 Nivelles, Belgium.	

За техническа помощ или поръчка:
Тел.: +32 (0)67 88.99.99 Факс: +32 (0)67 88.99.96

III. КЛИНИЧЕН ПРЕГЛЕД

A. Биологична активност

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

B. Клинично приложение

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

IV. ПРИНЦИПИ НА МЕТОДА

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

V. ИЗПОЛЗВАНИ РЕАГЕНТИ

Реагенти		Количество 96 теста	Количество 4 x 96 теста	Цветен код	Приготвяне			
 Епруветки, покрити с анти-PRL (моноклонални антитела)		2 x 48	8 x 48	оранжев	Готов за употреба			
<table border="1"><tr><td>Ab</td><td>1251</td></tr></table> Анти-PRL- ¹²⁵ I (моноклонални антитела) антигела в TRIS Буфер със свински серумен албумин, натриев азид (0.5 %) и инертна червена боя		Ab	1251	1 флакон 22 ml 340 kBq	4 флакона 22 ml 4 x 340 kBq	червен	Готов за употреба	
Ab	1251							
<table border="1"><tr><td>CAL</td><td>0</td></tr></table> Нулев Калибратор във волски серум с тимол		CAL	0	1 флакон лиофилизира н	2 флакона лиофилизира ни	жълт	Добавете 2 ml дестилирана вода	
CAL	0							
<table border="1"><tr><td>CAL</td><td>N</td></tr></table> Калибратори 1-5 във волски серум с тимол (виж точните стойности на етикетите на флаконите)		CAL	N	5 флакона лиофилизира ни	2x5 флакона лиофилизира ни	жълт	Добавете 0,5 ml дестилирана вода	
CAL	N							
<table border="1"><tr><td>WASH</td><td>SOLN</td></tr></table> Измиваш разтвор (TRIS-HCl)		WASH	SOLN	1 флакон <table border="1"><tr><td>10 ml CONC</td></tr></table>	10 ml CONC	4 флакона 10 ml	кафяв	Разредете 70x с дестилирана вода (използвайте магнитен сепаратор)
WASH	SOLN							
10 ml CONC								
<table border="1"><tr><td>CONT ROL</td><td>N</td></tr></table> Контроли 1 и 2 в човешки серум с тимол		CONT ROL	N	2 флакона Леофилизира ни	2x2 флакона лиофилизира ни	сребърен	Добавете 0.5 ml дестилирана вода	
CONT ROL	N							

Забележка: 1. Използвайте нулевия калибратор за серумните разреждания.
2. 1 ng от калибрирания препарат е еквивалентен на 29 µIU от 3rd IS 84/500.
3. Фактор на превръщане: :ng/ml x 29= µUI / ml

VI. СРЕДСТВА, КОИТО НЕ СЕ ОСИГУРЯВАТ

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

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

VII. ПРИГОТВЯНЕ НА РЕАГЕНТА

А. Калибратори: Реконституирайте нулевия калибратор с 2 ml дестилирана вода, а другия калибратор – с 0,5 ml дестилирана вода.

В. Контроли: Реконституирайте контролите с 0.5 ml дестилирана вода.

С. Работен измиваш разтвор: Подгответе адекватен обем от работния измиваш разтвор чрез добавянето на 69 обема дестилирана вода към 1 обем от измивашия разтвор (70x). Използвайте магнитен сепаратор, за да хомогенизирате. Изхвърлете неупотребеното количество от работния измиваш разтвор в края на деня.

VIII. СЪХРАНЕНИЕ И СРОК НА ГОДНОСТ НА РЕАГЕНТИТЕ

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

IX. СЪБИРАНЕ НА ПРОБИТЕ И ОБРАБОТКА

- Серумът и плазмата трябва да се съхраняват при температури 2 – 8°C.
- Ако тестът не се направи в рамките на 24 часа, се препоръчва съхранение при температура -20°C.
- Избягвайте последващи цикли на замразяване-размразяване.
- Не използвайте хемолизирани проби.
- Серумът или плазмата (с EDTA или хепаринизирана) показват подобни резултати.
Y (серум) = 1.09x (хепаринизирана плазма) + 0.05 r = 0.95 n = 30
Y (серум) = 0.96x (плазма с EDTA) + 0.14 r = 0.98 n = 30

X. ПРОЦЕДУРА

А. Общи бележки

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

В. Процедура

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

XI. ИЗЧИСЛЯВАНЕ НА РЕЗУЛТАТИТЕ

- Изчислете средното аритметично на резултатите, получени от две по две епруветките.
- На полулогаритмична или линейна диаграма върху графична хартия нанесете (на ординатата) броят на минута за всеки калибратор (общ брой импулси в минута) спрямо (на абсцисата) съответната концентрация на PRL и начертайте калибрационна крива през калибрационните точки като не включвате точките, които очевидно не принадлежат към тази крива.

3. Прочетете концентрациите за всяка контрола и проба чрез интерполиране върху калибрационната крива.
4. Тези изчисления могат да се улеснят чрез асистирано редуциране на данните посредством компютър. Ако се използва автоматична обработка на резултатите, се препоръчва прилагането на 4-параметрова логистична функционална крива.

XII. ХАРАКТЕРНИ ДАННИ

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

PRL-IRMA		cpm	В/Т (%)
Общ брой		135774	100
Калибратор	0,0 ng/ml	224	0,16
	2,8 ng/ml	1266	0,93
	9,4 ng/ml	3401	2,5
	30,0 ng/ml	8124	5,98
	80,0 ng/ml	17778	13,09
	133,0 ng/ml	25312	18,64

Обхват на разкриване: 0.35 до 133 ng/ml

XIII. ИЗПЪЛНЕНИЕ И ОГРАНИЧЕНИЯ

А. Определен лимит

Двадесет нулеви калибратора са били изпитани заедно с комплект от други калибратори. Определения лимит, дефиниран като явната концентрация на две стандартни отклонения над средния брой при нулево свързване, е бил 0,35 ng/ml.

В. Специфичност

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

добавен хормон	PRL CAL 1 ng/ml	PRL CAL 2 ng/ml
-	2,4	66
LH 300 mIU/ml	2,6	62
FSH 300 mIU/ml	2,5	62
hCG 300000 mIU/ml	2,5	63
hPL 50000 ng/ml	2,9	67
hGH 1000 ng/ml	2,3	68
TSH 300 µIU/ml	2,1	59

PRL-IRMA на Биосорс измерва тоталния Пролактин, което означава активният пролактинов мономер и биологично неактивният макропролактин (виж референции 10 и 11). За пациенти с високо ниво на Пролактин, при прилагане на този кит, е необходимо получаването на допълнителна информация за установяване на точната диагноза. Трябва да се отчетат потенциалните ефекти на смущения при хемоглобин 7.5 mg/ml и билирубин 0.2 mg/ml. Резултатите от този тест не показват никакви значими смущения (виж таблицата долу).

Проба	Начална стойност (ng/ml)	Стойност + Хемоглобин (ng/ml)	Стойност + Билирубин (ng/ml)
Плазма 1	7,5	7,6	6,8
Плазма 2	40,8	41	38
Серум 1	6,1	6,2	5,6
Серум 2	5,7	5,6	5,5

С. Прецизност

ПО ВРЕМЕ НА ИЗПИТВАНЕТО МЕЖДУ ИЗПИТВАНЕТО

Серум	N	<X>±S.D. ng/ml	CV (%)	Серум	N	<X>±S.D. ng/ml	CV (%)
A	10	7,5±2,2	3,3	C	20	7,4±0,7	9,2
B	10	26,6±1,4	5,2	D	20	49,1±2,2	4,5

Г. Точност

ВЪЗСТАНОВИТЕЛЕН ТЕСТ

Проба	Добавен PRL (ng/ml)	Възстановен PRL (ng/ml)	Възстановяване (%)
A	2	1,8	90,0
	5	5,0	100,0
	10	9,8	98,0
	20	19,5	97,5
	50	45,6	91,2

ТЕСТ С РАЗРЕЖДАНЕ

Проба	Разреждане	Теоретична концентрация (ng/ml)	Измерена концентрация (ng/ml)
1	1/1	-	192,0
	1/2	96,0	97,0
	1/4	48,0	57,0
	1/8	24,0	30,6
	1/16	12,0	10,3
2	1/1	-	232,0
	1/2	116,0	122,0
	1/4	58,0	65,0
	1/8	29,0	27,4
	1/16	14,5	15,3

Пробите са били разредени с нулев калибратор.

Д. Закъснение

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

	0' (ng/ml)	15' (ng/ml)	30' (ng/ml)	60' (ng/ml)
Серум 1	5,4	5,8	6,4	6,3
Серум 2	32,2	22,3	26,8	25,9

Е. Ефект на кукичката

Серумна проба с концентрация 18000 ng/ml PRL дава сигнал, надминаващ най-високата концентрация на калибратора.

XIV. ВЪТРЕШЕН КАЧЕСТВЕН КОНТРОЛ

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

XV. РЕФЕРЕНТНИ ИНТЕРВАЛИ

Стойностите, показани по-долу, са предоставени само за напътствие; всяка лаборатория трябва да установи свои собствен нормален обхват на стойности. Концентрациите на PRL бяха измерени в серумни проби, взети от различни категории здрави индивиди.

Идентификация	Брой обекти	Средно (ng/ml)	Обхват (ng/ml)
Мъже	97	4,8	1,8 – 15,9
Пременопаузални жени	95	8,6	2,7 – 19,7
Постменопаузални жени	47	6,1	1,9 – 17,9

XVI. ПРЕДПАЗНИ МЕРКИ И ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ

Безопасност

Само за *in vitro* диагностика.

Този набор съдържа ¹²⁵I (полуживот: 60 дни), емитиращ йонизиращи X (28 keV) и γ (35.5 keV) лъчения.

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

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

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

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

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

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

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

XVII. БИБЛИОГРАФИЯ

1. ARCHER D.F. (1977).
Current concepts of prolactin physiology in normal and abnormal conditions.
Fertil Steril 28:125.
2. LAUFER N., BOTERO-RUIZ W., DE CHEMEY A.H., ET AL. (1984).
Gonadotropin and prolactin levels in follicular fluid of human ova successfully fertilized in vitro.
J. Clin. Endocrinol. Metab. 58:430.
3. LEONG D.A., FRAWLEY L.S., NEIL J.D. (1983).
Neuroendocrine control of prolactin secretion.
An. Rev. of Physiol. 45:109.
4. SEPPALA M. (1978).
Prolactin and female reproduction.
An. Clin. Res. 10:164.
5. TAYLOR T.J., TROUSON A, BESANKO M., BURGER H.G., STOCKDALE J. (1986).
Plasma progesterone and prolactin changes in superovulated women before, during and immediately after laparoscopy for in vitro fertilisation and their relation to pregnancy
Fertil. Steril 45:680.
6. TYSON J.E. (1980)
Changing role of placental lactogen and prolactin in human gestation.
Clin. Obstet.Gynecol 23:737.

7. KAMEL M.A ET AL (1994)
Comparison between prolactin, gonadotropins and steroid hormones in serum and follicular fluid after stimulation with gonadotrophin-releasing hormone agonist and human menopausal gonadotrophin for an in-vitro fertilization program.
Hum. Reprod. 9(10):1803-6.
8. PATEL D.D. ET AL (1994).
Plasma prolactin in patients with colorectal cancer. Value in follow-up and as a prognosticator
Cancer 73(3):570-74.
9. HATTORI ET AL (1994).
Effects of anti-prolactin autoantibodies on serum prolactin measurements.
Eur. J. Endocrinol. 130(5):434-7.
10. Suh H.K. et al (1974).
Size heterogeneity of human Prolactin in plasma and pituitary extracts.
J. Clin. Endocrinol Metab 39 : 928-935.
11. Bonhoff A. et al (1995)
Identification of macroprolactin in a patient with asymptomatic hyperprolactinemia as a stable PRL-IgG complex.
Exp. Clin. Endocrinol. 103 : 252-5

XVIII. ОБОБЩЕНИЕ НА ПРОТОКОЛА

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

DIASource каталог номер: KIP 1441 – KIP 1444	P.I. номер: 1700465/bu	Номер на ревизия: 100813/1
---	---------------------------	-------------------------------

Дата на ревизия: 2010-08-13

	<u>Used symbols</u>	<u>Symboles utilisés</u>
	Consult instructions for use	Consulter les instructions d'utilisation
	Storage temperature	Température de conservation
	Use by	Utiliser jusque
	Batch code	Numéro de lot
	Catalogue number	Référence de catalogue
	Control	Contrôle
	In vitro diagnostic medical device	Dispositif médical de diagnostic in vitro
	Manufacturer	Fabricant
	Contains sufficient for <n> tests	Contenu suffisant pour <n> tests
	Wash solution concentrated	Solution de lavage concentrée
	Zero calibrator	Calibrateur zéro
	Calibrator #	Calibrateur #
	Control #	Contrôle #
	Tracer	Traceur
	Tracer	Traceur
	Tracer concentrated	Traceur concentré
	Tracer concentrated	Traceur concentré
	Tubes	Tubes
	Incubation buffer	Tampon d'incubation
	Acetonitrile	Acétonitrile
	Serum	Sérum
	Specimen diluent	Diluant du spécimen
	Dilution buffer	Tampon de dilution
	Antiserum	Antisérum
	Immunoabsorbent	Immunoabsorbant
	Calibrator diluent	Diluant de calibrateur
	Reconstitution solution	Solution de reconstitution
	Polyethylene glycol	Glycol Polyéthylène
	Extraction solution	Solution d'extraction
	Elution solution	Solution d'élution
	Bond Elut Silica cartridges	Cartouches Bond Elut Silica
	Pre-treatment solution	Solution de pré-traitement
	Neutralization solution	Solution de neutralisation
	Tracer buffer	Tampon traceur
	Microtiterplate	Microplaque de titration
	HRP Conjugate	HRP Conjugué
	HRP Conjugate	HRP Conjugué
	HRP Conjugate concentrate	HRP Conjugué concentré
	HRP Conjugate concentrate	HRP Conjugué concentré
	Conjugate buffer	Tampon conjugué
	Chromogenic TMB concentrate	Chromogène TMB concentré
	Chromogenic TMB solution	Solution chromogène TMB
	Substrate buffer	Tampon substrat
	Stop solution	Solution d'arrêt
	Incubation serum	Sérum d'incubation
	Buffer	Tampon
	AP Conjugate	AP Conjugué
	Substrate PNPP	Tampon PNPP
	Biotin conjugate concentrate	Biotine conjugué concentré
	Avidine HRP concentrate	Avidine HRP concentré
	Assay buffer	Tampon de test
	Biotin conjugate	Biotine conjugué
	Specific Antibody	Anticorps spécifique
	Streptavidin HRP concentrate	Concentré streptavidine HRP
	Non-specific binding	Liant non spécifique
	2nd Antibody	Second anticorps
	Acidification Buffer	Tampon d'acidification

	<u>Gebruikte symbolen</u>	<u>Gebrauchte Symbolen</u>
	Raadpleeg de gebruiksaanwijzing	Gebrauchsanweisung beachten
	Bewaartemperatuur	Lagern bei
	Houdbaar tot	Verwendbar bis
	Lotnummer	Chargenbezeichnung
	Catalogusnummer	Bestellnummer
	Controle	Kontrolle
	Medisch hulpmiddel voor in-vitro diagnostiek	In Vitro Diagnostikum
	Fabrikant	Hersteller
	Inhoud voldoende voor <n> testen	Ausreichend für <n> Ansätze
	Wasoplossing, geconcentreerd	Waschlösung-Konzentrat
	Nulkalibrator	Null kalibrator
	Kalibrator #	Kalibrator #
	Controle #	Kontrolle #
	Tracer	Tracer
	Tracer	Tracer
	Tracer geconcentreerd	Tracer Konzentrat
	Tracer geconcentreerd	Tracer Konzentrat
	Buisjes	Röhrchen
	Incubatiebuffer	Inkubationspuffer
	Acetonitrile	Azetonitril
	Serum	Humanserum
	Specimen diluent	Probenverdünner
	Verdunningsbuffer	Verdünnungspuffer
	Antiserum	Antiserum
	Immunoabsorbent	Immunadsorbens
	Kalibratorverdunner	Kalibratorverdünnung
	Reconstitutieoplossing	Rekonstitutionslösung
	Polyethyleen glycol	Polyethylenglykol
	Extractieoplossing	Extraktionslösung
	Elutieoplossing	Eluierungslösung
	Bond Elut Silica kolom	Bond Elut Silikakartuschen
	Pre-behandelingsoplossing	Vorbehandlungslösung
	Neutralisatieoplossing	Neutralisierungslösung
	Tracerbuffer	Tracer-Puffer
	Microtiterplaat	Mikrotiterplatte
	HRP Conjugaat	HRP Konjugat
	HRP Conjugaat	HRP Konjugat
	HRP Conjugaat geconcentreerd	HRP Konjugat Konzentrat
	HRP Conjugaat geconcentreerd	HRP Konjugat Konzentrat
	Conjugaat buffer	Konjugatpuffer
	Chromogene TMB geconcentreerd	Chromogenes TMB Konzentrat
	Chromogene Oplossing TMB	Farblösung TMB
	Substraatbuffer	Substratpuffer
	Stopoplossing	Stopplösung
	Incubatieserum	Inkubationsserum
	Buffer	Puffer
	AP Conjugaat	AP Konjugat
	Substraat PNPP	Substrat PNPP
	Geconcentreerd Biotine conjugaat	Biotin-Konjugat-Konzentrat
	Geconcentreerd Avidine-HRP conjugaat	Avidin-HRP-Konzentrat
	Assay buffer	Assaypuffer
	Biotine conjugaat	Biotin-Konjugat
	Specifiek antilichaam	Spezifischer Antikörper
	Streptavidine-HRP concentraat	HRP Streptavidinkonzentrat
	Aspecifieke binding	Unspezifische Bindung
	2de antilichaam	Sekundärer Antikörper
	Verzuringbuffer	Ansäuerungspuffer

	<u>Simboli utilizzati</u>	<u>Símbolos utilizados</u>
	Consultare le istruzioni per l'uso	Consultar las instrucciones de uso
	Limitazioni di temperatura	Limitación de temperatura
	Utilizzare entro	Fecha de caducidad
	Numero di lotto	Código de lote
	Numero di catalogo	Número de catálogo
	Controllo	Control
	Dispositivo medico-diagnostico in vitro	Producto sanitario para diagnóstico in vitro
	Fabbricante	Fabricante
	Contenuto sufficiente per <n> saggi	Contenido suficiente para <n> ensayos
	Tampone di lavaggio concentrato	Solución de lavado concentrada
	Calibratore zero	Calibrador cero
	Standard #	Calibrador #
	Controllo #	Control #
	Marcato	Trazador
	Marcato	Trazador
	Marcato concentrato	Trazador concentrada
	Marcato concentrato	Trazador concentrada
	Provette	Tubos
	Tampone incubazione	Tampón de incubación
	Acetonitrile	Acetonitrilo
	Siero	Suero
	Diluente campione	Diluyente de Muestra
	Tampone diluizione	Tampón de dilución
	Antisiero	Antisuero
	Immunoassorbente	Inmunoadsorbente
	Diluente calibratore	Diluyente de calibrador
	Soluzione di ricostituzione	Solución de Reconstitución
	Polietilenglicole	Glicol Polietileno
	Soluzione di estrazione	Solución de extracción
	Soluzione di eluizione	Solución de elución
	Cartucce di silice bond elut	Cartuchos Bond Elut Silica
	Soluzione di pretrattamento	Solución de Pre-tratamiento
	Soluzione di neutralizzazione	Solución de Neutralización
	Tracer Buffer	Tampón de trazador
	Piastra di microtitolazione	Placa de microvaloración
	HRP Coniugato	HRP Conjugado
	HRP Coniugato	HRP Conjugado
	HRP Coniugato concentrato	HRP Conjugado concentrada
	HRP Coniugato concentrato	HRP Conjugado concentrada
	Buffer coniugato	Tampón de Conjugado
	Cromogena TMB concentrato	Cromógena TMB concentrada
	Soluzione cromogena TMB	Solución Cromógena TMB
	Tampone substrato	Tampón de sustrato
	Soluzione di arresto	Solución de Parada
	Incubazione con siero	Suero de Incubación
	Buffer	Tampón
	AP Coniugato	AP Conjugado
	Substrato PNPP	Sustrato PNPP
	Concentrato coniugato con biotina	Concentrado de conjugado de biotina
	Concentrato avidina HRP	Concentrado avidina-HRP
	Soluzione tampone per test	Tampón de ensayo
	Coniugato con biotina	Conjugado de biotina
	Anticorpo Specifico	Anticuerpo específico
	Streptavidina-HRP concentrata	Estreptavidina-HRP Concentrado
	Legame non-specifico	Unión no específica
	2° Anticorpo	Segundo anticuerpo
	Tampone Acidificante	Tampón de Acidificación

	<u>Símbolos utilizados</u>	<u>Använda symboler</u>
	Consulte instruções de utilização	Läs instruktionerna före användning
	Temperatura de conservação	Förvaringstemperatur
	Utilizar antes de	Används av
	Código de lote	Lotnummer
	Número de catálogo	Katalognummer
	Controlo	Kontroll
	Dispositivo médico de diagnóstico in vitro	In vitro diagnostiskt kit
	Fabricante	Tillverkare
	Conteúdo suficiente para <n> testes	Innehållet räcker till <n> prover
	Solução de lavagem concentrada	Tvättlösning, koncentrerad
	Calibrador zero	Nollkalibrerare
	Calibrador #	Kalibrator #
	Controlo #	Kontroll #
	Marcador	Radioisotop, antigen
	Marcador	Radioisotop, antikropp
	Marcador concentrada	Radioisotop, antigen koncentrerad
	Marcador concentrada	Radioisotop, antikropp koncentrerad
	Tubos	Rör
	Tampão de incubação	Inkuberingsbuffert
	Acetonitrilo	Acetonitril
	Soro	Serum
	Diluidor de espécimes	Spädningsbuffert för prover
	Tampão de diluição	Spädningsbuffert
	Anti-soro	Antiserum
	Imunoadsorvente	Immunoadsorberare
	Diluyente do calibrador	Kalibratordiluent
	Solução de Reconstituição	Rekonstitutionslösning
	Polietileno-glicol	Polyetylglykol
	Solução de Extracção	Extraktionslösning
	Solução de Eluição	Elueringslösning
	Cartuchos de sílica Bond Elut	Silikonpatroner för elueringsbindning
	Solução de pré-tratamento	Förbehandlingslösning
	Solução de neutralização	Neutraliseringslösning
	Tampão Marcador	Tracerbuffert
	Placa de micro titulação	Microtiterplatta
	HRP Conjugação	HRP-konjugat
	HRP Conjugação	HRP-konjugat
	HRP Conjugação concentrada	HRP-konjugat-koncentrat
	HRP Conjugação concentrada	HRP-konjugat-koncentrat
	Conjuge o tampão	Konjugatbuffert
	Cromogénica TMB concentrada	Kromogeniskt TMB-koncentrat
	Solução Cromogénica TMB	Kromogenisk TMB-lösning
	Tampão de substrato	Substratbuffert
	Solução de Paragem	Stoplösning
	Soro de incubação	Inkubationsserum
	Tampão	Buffert
	AP Conjugação	AP-konjugat
	Substrato PNPP	Substrat-PNPP
	Concentrado conjugado de biotina	Biotinkonjugat koncentrat
	Concentrado HRP de avidina	Avidin HRP-koncentrat
	Tampão de ensaio	Provbuffert
	Conjugado de biotina	Biotinkonjugat
	Anticorpo específico	-
	Estreptavidina HRP concentrado	-
	Ligações não específicas	-
	Anticorpo secundário	-
	Tampão de acidificação	-

	<u>Επεξήγηση συμβόλων</u>	<u>Anvendte symboler</u>
	Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης	Læs brugsvejledningen
	Θερμοκρασία αποθήκευσης	Opbevaringstemperatur
	Ημερομηνία λήξης	Anvend inden
	Αριθμός παρτίδας	Batchkode
	Αριθμός καταλόγου	Katalognummer
	Πρότυπο ελέγχου	Kontrol
	In Vitro Διαγνωστικό Ιατροτεχνολογικό προϊόν	Medicinsk udstyr til in vitro-diagnosticering
	Κατασκευαστής	Fabrikant
	Περιεχόμενο επαρκές για «n» εξετάσεις	Indeholder nok til <n> test
	Συμπυκνωμένο διάλυμα έκπλυσης	Koncentreret vaskeopløsning
	Μηδενικός βαθμονομητής	Nul-kalibrator
	Βαθμονομητής #	Kalibrator nr.
	Ορός ελέγχου #	Kontrol nr.
	Ιχνηθέτης	Markør
	Ιχνηθέτης	Markør
	Χρωμογόνος Ιχνηθέτης	Koncentreret markør
	Χρωμογόνος Ιχνηθέτης	Koncentreret markør
	Σοληνάρια	Tuber
	Ρυθμιστικό διάλυμα επώασης	Inkubationsbuffer
	Ακετονιτρίλιο	Acetonitril
	Ορός	Serum
	Διάλυμα αραίωσης δειγμάτων	Prøvediluent
	Ρυθμιστικό διάλυμα αραίωσης	Fortyndingsbuffer
	Αντιορός	Antiserum
	Ανοσοπροσροφητικό	Immonoadsorbent
	Αραιωτικό βαθμονομητών	Kalibratordiluent
	Διάλυμα ανασύστασης	Rekonstitueringsopløsning
	Πολυαιθυλενογλυκόλη	Polyetylglykol
	Διάλυμα εκχύλισης	Ekstraktionsopløsning
	Διάλυμα έκλουσης	Elueringsopløsning
	Φύσιγγες πυριτίου Bond Elut	Patroner med bindingselueringssilica
	Διάλυμα προεπεξεργασίας	Forbehandlingsopløsning
	Διάλυμα εξουδετέρωσης	Neutraliseringsopløsning
	Ρυθμιστικό διάλυμα	Markørbuffer
	Πλάκα μικροτιτλοδότησης	Mikrotiterplade
	HRP Σύζευγμα	HRP-konjugat
	HRP Σύζευγμα	HRP-konjugat
	Χρωμογόνος HRP Σύζευγμα	HRP-konjugat-koncentreret
	Χρωμογόνος HRP Σύζευγμα	HRP-konjugat-koncentreret
	Ρυθμιστικό διάλυμα συζεύγματος	Konjugatbuffer
	Χρωμογόνος TMB	Kromogen TMB-koncentreret
	Διάλυμα χρωμογόνου TMB	Kromogen TMB-opløsning
	Ρυθμιστικό διάλυμα υποστρώματος	Substratbuffer
	Ανασχετικό αντιδραστήριο	Stopopløsning
	Ορός επώασης	Inkubationsserum
	Ρυθμιστικό διάλυμα	Buffer
	AP Σύζευγμα	AP-konjugat
	PNPP υποστρώματος	Substrat PNPP
	Συμπυκνωμένο αντιδραστήριο συζευγμένο με βιοτίνη	Biotin konjugat koncentrat
	Συμπυκνωμένο διάλυμα αβιδίνης-HRP	Avidin HRP koncentrat
	Ρυθμιστικό διάλυμα προσδιορισμού	Prøvebuffer
	αντιδραστήριο συζευγμένο με βιοτίνη	Biotin konjugat
	Ειδικό Αντίσωμα	-
	Συμπυκνωμένη στρεπταβιδίνη συνεξευγμένη με HRP	-
	μη-ειδική δέσμευση	-
	2ο Αντίσωμα	-
	Ρυθμιστικό Διάλυμα όξινο	-

	<u>Stosowane symbole</u>	<u>Használt szimbólumok</u>
	Przed zastosowaniem zapoznać się z instrukcją	Olvassa el a használati útmutatót
	Temperatura przechowywania	Tárolási hőmérséklet
	Zużyć przed	Lejáratí idő
	Kod serii	Gyártási kód
	Numer katalogowy	Katalógus szám
	Kontrola	Kontrol
	Urządzenie medyczne do diagnostyki in vitro	In vitro diagnosztikai eszköz
	Producent	Gyártó
	Zawartość wystarczająca do <n> testów	Tartalma <n> teszt elvégzésére elegendő
	Roztwór płuczący stężony	Mosó folyadék koncentrátum
	Kalibrator zerowy	Zero kalibrátor
	Kalibrator nr	Kalibrátor #
	Kontrola nr	Kontrol #
	Znacznik izotopowy	Nyomjelző izotóp
	Znacznik izotopowy	Nyomjelző izotóp
	Znacznik izotopowy stężony	Nyomjelző izotóp koncentrátum
	Znacznik izotopowy stężony	Nyomjelző izotóp koncentrátum
	Probówki	Csővek
	Wymagana inkubacja buforu	Inkubáló puffer
	Acetonitryl	Acetonitril
	Surowica	Szérum
	Rozcieńczalnik próbki	Mintahígító
	Bufor do rozcieńczania	Hígító puffer
	Antysurowica	Antiszérum
	Immunoabsorbent	Immunadszorbens
	Rozcieńczalnik kalibratora	Kalibrátor hígító
	Roztwór do rozcieńczania	Mintaelőkészítő oldat
	Glikol poli(oksy)etylenowy	Polietilén glikol
	Roztwór ekstrakcyjny	Extrakciós oldat
	Roztwór elucyjny	Eluáló oldat
	Kolumny krzemionkowe Bond Elut	Bond Elut Silica szilikagél patronok
	Roztwór do przygotowania wstępnego	Előkezelő oldat
	Roztwór neutralizujący	Semlegesítő oldat
	Bufor znacznika	Nyomjelző izotóp hígító puffer
	mikro płytki	Mikrotiter lemez
	Koniugat peroksydazy chrzanowej	HRP konjugátum
	Koniugat peroksydazy chrzanowej	HRP konjugátum
	Koncentrat koniugatu peroksydazy chrzanowej	HRP konjugátum koncentrátum
	Koncentrat koniugatu peroksydazy chrzanowej	HRP konjugátum koncentrátum
	Bufor do koniugacji	Konjugátum puffer
	Koncentrat chromogenu TMB (czterometylobenzodyny)	Kromogén TMB koncentrátum
	Roztwór chromogenu TMB (czterometylobenzodyny)	Kromogén TMB oldat
	Bufor substratu	Szubsztrát puffer
	Roztwór zatrzymujący reakcję	Stop oldat
	Wymagana inkubacja surowicy	Inkubációs szérum
	Bufor	Puffer
	Koniugat AP (fosfatazy alkalicznej)	AP konjugátum
	p-nitrofenylofosforan substratowy	Szubsztrát PNPP
	Koncentrat koniugatu biotyny	Biotin konjugátum koncentrátum
	Koncentrat peroksydazy chrzanowej z awidyną	Avidin HRP koncentrátum
	Bufor do oznaczania	Vizsgálati puffer
	Koniugatu biotyny	Biotin konjugátum
	Przeciwciało swoiste	Specifikus ellenanyag
	Koncentrat streptawidyny HRP	Sztreptawidin HRP koncentrátum
	Wiązanie nieswoiste	Nem-specifikus kötődés
	Drugie przeciwciało	Másodlagos ellenanyag
	Bufor zakwaszający	Savas puffer

	<u>Използвани символи</u>
	Вижте инструкцията за работа
	Температура на съхранение
	Използвайте с
LOT	Партиден код
REF	Каталожен номер
CONTROL	Контрол
IVD	Ин витро диагностично медицинско изделие
	Производител
	Съдържание достатъчно за <n> теста
WASH SOLN CONC	Концентриран измиващ разтвор
CAL 0	Нулев калибратор
CAL N	Калибратор #
CONTROL N	Контрол #
Ag 125I	Трейсър
Ab 125I	Трейсър
Ag 125I CONC	Концентриран маркер
Ab 125I CONC	Концентриран маркер
	Епруветки
INC BUF	Инкубационен буфер
ACETONITRILE	Ацетонитрил
SERUM	Серум
DIL SPE	Разредител за пробите
DIL BUF	Буфер за разреждане
ANTISERUM	Антисерум
IMMUNOABSORBENT	Имуноабсорбент
DIL CAL	Разредител за калибратора
REC SOLN	Пресъздаващ разтвор
PEG	Полиетилен гликол
EXTR SOLN	Екстрактов разтвор
ELU SOLN	Разтвор за елюиране
GEL	Силикагелни пълнители
PRE SOLN	Пред-лечебен разтвор
NEUTR SOLN	Неутрализиращ разтвор
TRACEUR BUF	Маркерен буфер
	Микротитърна пластина
Ab HRP	HRP конюгат / Конюгат на хрянова пероксидаза
Ag HRP	HRP конюгат / Конюгат на хрянова пероксидаза
Ab HRP CONC	HRP конюгиран концентрат
Ag HRP CONC	HRP конюгиран концентрат
CONJ BUF	Буфер за конюгата
CHROM TMB CONC	Хромогенен ТМВ концентрат
CHROM TMB	Хромогенен ТМВ разтвор
SUB BUF	Субстратен буфер
STOP SOLN	Стоп разтвор
INC SER	Инкубационен серум
BUF	Буфер
Ab AP	AP конюгат / конюгат на алкална фосфатаза
SUB PNPP	Субстрат PNPP / пара нитрофенил фосфат
BIOT CONJ CONC	Биотин конюгиран концентрат
AVID HRP CONC	Авидин HRP концентрат
ASS BUF	Буфер за пробите
Ab BIOT	Биотин конюгат
Ab	специфично антитяло
SAV HRP CONC	стрептавидин HRP концентрат
NSB	не специфично свързване
2nd Ab	второ антитяло
ACID BUF	киселинизиращ буфер