



BIOCLONE

ELEGANCE

KIT PROLACTINA

ELISA

REF 40 410096

Σ 96

ESPAÑOL



**GARANTÍA**

El fabricante garantiza únicamente que el kit de diagnóstico mide el analito designado cuando se utiliza según las instrucciones proporcionadas por el fabricante. Cualquier otro uso del kit de diagnóstico es ajeno a la finalidad para la que ha sido concebido este producto y se realiza por cuenta y riesgo del usuario.

El fabricante rechaza toda garantía implícita de comercialización y conveniencia por uso o utilidad implícita para cualquier otro propósito. Toda indemnización por defecto o error del kit de diagnóstico utilizado según sus instrucciones se limita al valor de reemplazo del kit. La sola obligación de Bioclone Australia Pty Limited y sus distribuidores se limita al reemplazo del producto o a la devolución del precio de la compra. Bioclone Australia Pty Limited no es responsable por perjuicios materiales, lesiones personales, o pérdidas económicas causadas por los productos.

Fabricado por Bioclone Australia Pty Limited

(filial de Hitachi Chemical Co., Ltd) ABN 14 002 036 071

71-73 Railway Parade Marrickville NSW AUSTRALIA 2204

Tel +61 (0) 2 9517 1966 Fax +61 (0) 2 9517 2990 Llamada gratuita 1800 251 138

Email sales@bioclone.com.au Web www.bioclone.com.au



Hitachi Chemical Diagnostics Inc.

Hitachi Europe Limited, Whitebrook Park, Lower Cookham Road Maidenhead, Berkshire, SL6 8YA, UK. Phone: +44 1628 585 591

**USO PREVISTO**

La ELEGANCE PROLACTINA ELISA ha sido creada para la detección cuantitativa en el diagnóstico *in vitro* de la prolactina humana (PRL), en el suero o en el plasma.

**PRINCIPIOS DE LA ELEGANCE ELISA**

La ELEGANCE ELISA es un enzimo-inmunoensayo. El antígeno de la muestra queda atrapado («sándwich») entre el anticuerpo ligado al micropocillo y el reactivo anticuerpo biotinilado. Se lavan los micropocillos para eliminar todo tipo de material no ligado. Se añade estreptavidina-peroxidasa (Reactivo de Amplificación) la cual se enlaza al anticuerpo biotinilado en muchos sitios. Después del lavado, la solución sustrato reacciona con cualquier peroxidasa ligada, produciendo así un color directamente proporcional a la cantidad de antígeno de la muestra. Dicha cantidad puede calcularse a partir de la curva del calibrador.

**REACTIVOS ELEGANCE**

**ENTREGADOS.**

**ESTABILIDAD Y CONSERVACIÓN**

Tamaño del kit - 96 pruebas. El kit y todos sus componentes, no abiertos o abiertos, deben conservarse a 2-8°C hasta la fecha de caducidad indicada.

**PROLACTINA: Micropocillos recubiertos**

**96 pocillos REF # PLA96**

Placa con micropocillos recubiertos con anticuerpo anti-Prolactina.

Lista para utilizar.

**PROLACTINA: Reactivo**

**Anticuerpo**

**1 ampolla REF # PLB96**

10 ml de anticuerpo anti-Prolactina biotinilado en una solución tampón con albúmina sérica bovina, suero animal no inmune y una tintura azul. Contiene azida de sodio 0,2% p/v y tiomersal 0,01% p/v. Listo para utilizar.

**PROLACTINA: Reactivo de Amplificación**

**1 ampolla REF # PLP96**

10 ml de estreptavidina-peroxidasa (estreptavidina de *S. avidinii*) en una solución tampón con albúmina sérica bovina y una tintura violeta. Contiene Bronidox L 0,2% p/v y tiomersal 0,02% p/v. Listo para utilizar.

**Concentrado para lavado**

**1 ampolla REF # EWC96**

50 ml de una solución para lavado 15 x concentrada. Contiene tiomersal 0,09% p/v. Diluir antes de utilizar.

**Sustrato Tampón**

**1 ampolla REF # ESB20**

20 ml de peróxido de urea en una solución tampón citrato-fostato. Contiene tiomersal 0,01% p/v.

**Comprimidos Sustrato**

**1 ampolla REF # EST4**

4 comprimidos x 4 mg de ortofenilenediamina (OPD) con principios inactivos.

**PROLACTINA: Calibradores**

**6 ampollas REF # EPLS1-6**

1,5 ml en el Calibrador A y 0,5 ml en cada uno de los calibradores B a F en suero humano. Contiene azida de sodio 0,1% p/v. Liofilizado.

**PRECAUCIONES Y**

**ADVERTENCIAS A LOS USUARIOS**

La manipulación de las muestras y de los componentes del kit, su uso, su conservación y su eliminación deben desarrollarse conforme a los procedimientos y las normas locales o nacionales para la seguridad en el trabajo de laboratorio.

**Muestras y Calibradores**

El material de origen de los calibradores ha sido examinado con un método aprobado y acreditado para averiguar la presencia del antígeno de superficie de la hepatitis B, del anticuerpo de la hepatitis C y del anticuerpo HIV - 1/2 (AIDS): se comprobó que no es reactivo a ninguno de ellos. Sin embargo, se recomienda que todas las muestras se manipulen como si fueran capaces de transmitir una enfermedad infecciosa.

**Conservantes**

El kit contiene azida de sodio, tiomersal y Bronidox L como conservantes. Ya que los reactivos contienen conservantes potencialmente tóxicos, durante su manipulación hay que tener cuidado para evitar la ingestión o el contacto con la piel. La azida de sodio puede reaccionar con plomo y tuberías de cobre formando azidas potencialmente explosivas.

**Sustrato**

Evitar el contacto con la piel

**OBTENCIÓN DE LAS MUESTRAS Y MANIPULACIÓN**

No se requiere una preparación especial del paciente. Las muestras, pudiendo ser suero o plasma, deben recolectarse de un modo apropiado para las pruebas de laboratorio. Es preferible suero; sin embargo, pueden emplearse los anticoagulantes heparina o EDTA sin comprometer la precisión. Evitar muestras fuertemente hemolíticas, lipídicas y turbias. Las muestras pueden conservarse a 2-8°C hasta 48 horas. Las muestras conservadas durante más tiempo deben guardarse a, o por debajo de, -20°C. Las muestras no se deben congelar y descongelar repetidamente. En las muestras descongeladas debe controlarse la presencia de materia floculada y hay que mezclar por inversión justo antes de examinarlas. Las muestras turbias o aquellas que contengan partículas deben centrifugarse antes de utilizarlas.

**MATERIALES Y EQUIPO REQUERIDOS NO INCLUIDOS**

- Agua destilada o desionizada
- 1M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>
- Pipetas de precisión
- Pipeta repetidora
- Tubo graduado 1l
- Paño absorbente (sin hilachas)
- Timer
- Mezclador Vortex
- Agitador para microplacas
- Lavador de microplacas
- Sistema de lectura de microplaca

**NOTAS DE PROCEDIMIENTO**

Llevar todos los reactivos y las muestras a temperatura ambiente (20-25°C) y mezclar suavemente por inversión antes de utilizarlos. Se recomienda trabajar por duplicado. La contaminación de los reactivos lleva a prestaciones de calidad inferior. Debería realizarse una curva de calibrado por cada ensayo. Las muestras sospechosas de tener una concentración superior al punto máximo del calibrador deben diluirse en calibrador cero antes del ensayo. Todas las etapas del ensayo deben realizarse sin interrupción; pero si no es posible llenar los pocillos con solución sustrato inmediatamente después del lavado, entonces los micropocillos deberán colocarse boca abajo sobre un paño absorbente durante un tiempo máximo de 15 minutos. Los reactivos están emparejados en cada kit, por consiguiente no deben mezclarse reactivos con número de lote diferentes. Antes de utilizarlos, hay que calibrar correctamente el fotómetro y todas las pipetas.

**Lavado**

La eficacia de la etapa del lavado es vital para una buena precisión. Los micropocillos se lavan utilizando un lavador automático de placas. Evitar desbordamientos de un pocillo a otro.

**Control de calidad**

Para garantizar un procedimiento correcto, hay que efectuar un control de las muestras en cada ensayo. Para la aprobación del ensayo, los valores de control deben situarse dentro de los valores límites de laboratorio.

**PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO**

**Preparación de los Reactivos Solución para lavado**

Diluir el concentrado de lavado 1 en 15 con agua desionizada. La solución de lavado puede conservarse a temperatura ambiente (20-25°C) durante 12 semanas.

**Solución Sustrato**

Se recomienda preparar este reactivo inmediatamente antes de utilizarse. Coloque el número exacto de comprimidos OPD en la cantidad requerida de Tampón Sustrato. Añada 1 comprimido por 5 ml.

Una vez que los comprimidos se hayan disuelto completamente (1-2 minutos) y no queden burbujas, vuelva a colocar el tapón en la botella y mezcle por inversión. Evite la luz intensa. La solución sustrato debe utilizarse en el plazo de los 30 minutos siguientes a su preparación.

**Calibradores**

Para reconstituir los calibradores liofilizados, añadir el volumen de agua desionizada indicado en la etiqueta de cada ampolla. Dejar que las ampollas se asienten, sin tocarlas, hasta su plena disolución (por lo menos 30 minutos) y a continuación mezclar suavemente mediante inversión. Las concentraciones exactas determinadas lote a lote se anotan

en una etiqueta separada dentro del kit. Después de la reconstitución, los calibradores deben conservarse a -20°C durante un máximo de 4 semanas.

#### Protocolo

- 1- Montar en la placa los micropocillos necesarios en función del número de test por realizar. Poner en su bolsa los micropocillos no utilizados y volver a guardarlos a 2-8°C.
- 2- Pipetear 25 µl de muestra (calibrador, control, espécimen) por duplicado en los pocillos apropiados. El tiempo a disposición para distribuir las muestras no debe exceder los 20 minutos.
- 3- Pipetear 100 µl de Reactivo Anticuerpo Prolactina (azul) en todos los pocillos.
- 4- Cubrir los micropocillos con la tapa e incubar durante 60 minutos a temperatura ambiente (20-25°C) en un agitador para placas.
- 5- Después de la incubación, lavar los micropocillos. Aspirar el líquido y enjuagar cada pocillo 4 veces con 250 µl de solución para lavado. Después del lavado final, volcar los micropocillos sobre paño absorbente y sacudir firmemente para quitar todo residuo de solución de lavado. Compruebe no queden burbujas de aire en los pocillos.
- 6- Pipetear 100 µl de Reactivo de Amplificación Prolactina (violeta) en todos los pocillos.
- 7- Cubrir los micropocillos con la tapa e incubar durante 10 minutos a temperatura ambiente (20-25°C) en un agitador para placas.
- 8- Después de la incubación, repetir la etapa del lavado.
- 9- Pipetear 100 µl de solución sustrato ya preparada en todos los pocillos. El tiempo de incubación se mide a partir de la adición de solución sustrato al primer pocillo.
- 10- Cubrir los micropocillos con la tapa e incubar durante 5 minutos a temperatura ambiente estacionaria (20-25°C).

#### CALIBRACIÓN

Los calibradores entregados en este kit han sido calibrados y marcados en mIU/l, conforme a la Organización Mundial de la Salud (OMS) Tercer IS 84/500.

Para convertir en ng/ml utilice:  $\text{ng/ml PRL} = \frac{\text{mIU/l PRL}}{21,2}$

#### LIMITACIONES

Las muestras de suero que muestren fuerte hemólisis, lipemia o turbidez pueden falsear los resultados.

#### VALORES ESPERADOS

Se recomienda cada laboratorio establezca su propio intervalo de referencia basado en una población testigo representativa. El siguiente intervalo de referencia fue obtenido con el ensayo de muestras de suero de individuos sanos y sólo se proporciona como guía:

|        | n        | PRL Intervalo (mIU/l) |
|--------|----------|-----------------------|
| Mujer  | <45 años | 33 76 - 464           |
|        | ≥45 años | 36 59 - 377           |
| Hombre | 70       | 57 - 326              |

11- Pipetear 50 µl de 1M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>

en todos los pocillos respetando la misma secuencia realizada en la adición de solución sustrato.  
12- Realizar una lectura (end-point) a 490 nm y procesar los datos como descrito en el manual del usuario del lector de microplaca. Esta etapa de lectura debe realizarse en el plazo de los 30 minutos a partir de la detención de la reacción.

#### CÁLCULO DE LOS RESULTADOS

El cálculo de los resultados puede realizarse manualmente, si no hay una reducción automática de datos. Determinar el OD de cada pocillo. Trazar la curva del calibrador en papel gráfico logarítmico con la concentración de los calibradores en el eje X y OD en el eje Y. La curva puede dibujarse punto por punto o de forma rutinaria con ajuste, como una interpolación. Interpolar los valores de la muestra del OD medido en esta curva del calibrador. Registrar el valor de cada muestra en mIU/l Prolactina. El intervalo de *ELEGANCE* Prolactina ELISA es de 0 a alrededor 3000 mIU/l, pero la concentración máxima que puede tomarse está limitada por las características de la línea del fotómetro que se utiliza. Si el mayor valor OD del calibrador se sitúa por encima del intervalo del fotómetro, este calibrador debe ser omitido del trazado de la curva del calibrador.

Si el mayor valor OD del calibrador se sitúa por encima del intervalo del fotómetro, este calibrador debe ser omitido del trazado de la curva del calibrador.

#### MODELO DE CÁLCULOS

Datos Endpoint

| ID        | Promedio OD | PRL (mIU/l) |
|-----------|-------------|-------------|
| 0         | 0,062       |             |
| 50        | 0,144       |             |
| 150       | 0,310       |             |
| 400       | 0,765       |             |
| 1200      | 1,618       |             |
| 3000      | 2,631       |             |
| Muestra 1 | 0,191       | 80          |
| Muestra 2 | 0,576       | 295         |
| Muestra 3 | 1,109       | 689         |

#### CARACTERÍSTICAS DE REALIZACIÓN

##### Precisión Intra-prueba

| Muestra | n  | Media ± 2SD (mIU/l) | %CV |
|---------|----|---------------------|-----|
| 1       | 16 | 139,9 ± 8,5         | 3,0 |
| 2       | 16 | 449,4 ± 19,1        | 2,7 |
| 3       | 16 | 716,5 ± 74,2        | 5,2 |

##### Precisión Inter-prueba

| Muestra | n* | Media ± 2SD (mIU/l) | %CV |
|---------|----|---------------------|-----|
| 1       | 22 | 137,8 ± 19,1        | 6,9 |
| 2       | 22 | 398,6 ± 44,5        | 5,6 |
| 3       | 22 | 869,2 ± 103,9       | 6,0 |

\* doble

##### Especificidad

| Análito                      | Concentración Analizada | PRL Aparente Resultad |
|------------------------------|-------------------------|-----------------------|
| PRL                          | 500 mIU/l               | indetectable          |
| Lactógeno de Placenta Humana | 100 ml/l                | indetectable          |

##### Precisión

La recuperación se calculó realizando un ensayo antes y después de la adición del analito exógeno.

| Muestra | PRL (mIU/l) Observada | PRL (mIU/l) Estimada | % Recuperación |
|---------|-----------------------|----------------------|----------------|
| 1       | 139,9                 | 137,8                | 101,5          |
| 2       | 252,0                 | 252,0                | 100,0          |
| 3       | 394,0                 | 401,0                | 98,4           |
| 4       | 1037,0                | 1100,0               | 94,2           |

##### Dilución

Una muestra fue diluida en calibrador cero; se analizó y se calculó la recuperación.

| Muestra | PRL (mIU/l) Observada | PRL (mIU/l) Estimada | % Recuperación |
|---------|-----------------------|----------------------|----------------|
| Limpia  | 909,0                 |                      |                |
| 1/2     | 462,2                 | 454,5                | 101,4          |
| 1/4     | 214,1                 | 227,3                | 93,5           |
| 1/8     | 112,4                 | 113,6                | 98,1           |
| 1/16    | 56,8                  | 56,8                 | 100,0          |

##### Efecto gancho de la dosis alta

Debido al efecto gancho de la dosis alta, característico del ensayo, las muestras mayores de 32000 mIU/l pueden falsear los resultados, menos que los del mayor calibrador del kit. Estas muestras deben diluirse con el calibrador cero y volver a analizarse.

##### Sensibilidad

La sensibilidad del ensayo es típicamente inferior a 10 mIU/l. La sensibilidad se define como aquella concentración de analito que corresponde con la variable dosis de respuesta (OD) que es igual a dos desviaciones estándar del promedio de la variable dosis de respuesta después de 16 determinaciones repetidas con el calibrador cero funcionando en 3 distintos ensayos.

##### Interferencia

No se ha observado interferencia con la recuperación del analito en concentraciones de hemoglobina hasta 250 mg/dl, de bilirubina hasta 10 mg/dl y de triglicérido hasta 970 mg/dl.

#### INFORMACIÓN PARA PEDIDOS

El *ELEGANCE* PROLACTINA ELISA es fabricado por:

Bioclone Australia Pty Limited,  
71-73 Railway Parade, Marrickville, NSW 2204, AUSTRALIA.  
Teléfono +61 (0) 2 9517 1966 Llamada gratuita 1800 251 138  
Fax +61 (0) 2 9517 2990  
Email sales@bioclone.com.au Web www.bioclone.com.au

#### SERVICIO TÉCNICO

Servicio técnico disponible llamando a Bioclone:  
+61 (0) 2 9517 1966 o Llamada gratuita: 1800 251 138

PART No.: EKBPRLS Ed.5

Fecha de revisión: 26 de Enero 2006