

## *Inmunoensayo Enzimático para la Determinación Cuantitativa de la Hormona de Prolactina en Suero Humano*

**Solo para diagnóstico In Vitro**  
**Para uso exclusivo en laboratorios clínicos o de gabinete**  
**Conservar entre 2°C a 8°C**

### **NOMBRES COMUNES Y DE PROPIEDAD**

Inmunoensayo de la Enzima de Prolactina

### **USO DESTINADO**

Para la determinación cuantitativa de la concentración de prolactina en el suero humano. Este ensayo es utilizado en el diagnóstico y tratamiento de desórdenes de la pituitaria anterior e hipotálamo.

### **INTRODUCCIÓN**

La prolactina humana (hormona lacto génica) es secretada desde la glándula pituitaria anterior en hombres y mujeres. La prolactina humana es una hormona polipéptido de cadena simple con un peso molecular de aproximadamente 23,000 daltons. La liberación y síntesis de la prolactina están bajo control neuroendocrino, principalmente a través del Factor de Liberación de Prolactina y el Factor de Inhibición de Prolactina.

Las mujeres normalmente tienen niveles de prolactina basal ligeramente más altos que los hombres; aparentemente, existe una elevación relacionada con el estrógeno en la pubertad y un correspondiente decremento durante la menopausia. Las funciones primarias de la prolactina son iniciar el desarrollo del pecho y para mantener la lactancia. La prolactina también suprime la función gonadal.

Durante el embarazo, los niveles de prolactina aumentan progresivamente entre 10 y 20 veces más de los valores normales, declinando a niveles de no embarazo 3-4 semanas post-parto. Las madres lactantes mantienen altos niveles de prolactina, y podrían tomar varios meses para que las concentraciones de suero regresen a los niveles de no embarazo. La determinación de la concentración de prolactina es útil para diagnosticar los desórdenes de la pituitaria hipotalámica. Los micro adenomas (pequeños tumores pituitarios) podría causar hiperprolactinemia, la cual está algunas veces asociada con la impotencia masculina. Niveles altos de prolactina están comúnmente asociados con galactorrea y amenorrea.

Las concentraciones de prolactina han demostrado incrementarse por medio del estrógeno, por la hormona liberadora de tirotrópina (TRH), y por varios medicamentos que afectan el mecanismo dopaminérgico. Los niveles de prolactina son elevados en la enfermedad renal e hipotiroidismo, y en algunas situaciones de estrés, ejercicio, e hipoglucemia. Además, la liberación de prolactina es episódica y demuestra una variación diurna. Las concentraciones moderadamente elevadas deben ser evaluadas tomando estas consideraciones en cuenta. Las concentraciones de prolactina podrían ser también incrementadas por medicamentos tales como cloropormazina y reserpina, y podrían ser disminuidas por bromocriptina y L-dopa.

### **PRINCIPIO DE LA PRUEBA**

La prueba cuantitativa de Prolactina está basada en un ensayo inmuoabsorbente vinculado a las enzimas de fase sólida (ELISA). Este ensayo utiliza un anticuerpo anti-prolactina para la inmovilización de la fase sólida (pozos de microtira) y otro anticuerpo anti-prolactina monoclonal de ratón en la solución de conjugado (peroxidasa de rábano picante) de enzima-anticuerpo. La muestra de prueba es permitida reaccionar simultáneamente con los anticuerpos, causando que las moléculas de prolactina se encuentren entre la fase sólida y los anticuerpos vinculados a las enzimas. Después de una incubación de 45 minutos a temperatura ambiente, los pozos son lavados con agua para remover los anticuerpos etiquetados no adheridos. Una solución de Reactivo TMB es agregada e incubada a temperatura ambiente por 20 minutos, provocando el desarrollo de un color azul. El desarrollo del color es frenado al añadir la Solución de Paro y el color es cambiado a amarillo y medido espectrofotométricamente a 450 nm. La concentración de prolactina es directamente proporcional a la intensidad del color de la muestra de prueba.

### **REACTIVOS**

#### ***Materiales abastecidos con el equipo de prueba:***

1. Placas de micropozos recubiertos de anticuerpos.
2. Reactivo de Enzima Conjugada. 1 Frasco
3. Estándares de Referencia de Prolactina, que contienen: 0, 5, 20, 50, 100, y 200 ng/mL, en forma líquida (listo para su uso) o liofilizado.
4. Reactivo TMB (Un paso). 1 Frasco
5. Solución de Paro (1N HCl). 1 Frasco
6. Solución de lavado concentrado (50x). 1 Frasco
7. Instructivo de uso

#### ***Materiales requeridos pero no abastecidos***

1. Pipetas de precisión 40 µL - 200 µL y 1.0 mL
2. Puntas para pipetas desechables.
3. Agua destilada o desionizada
4. Mezclador Vórtex o equivalente.
5. Papel absorbente o toalla de papel
6. Papel cuadriculado
7. Un lector de MicroElisa.

### **RECOLECCIÓN Y PREPARACIÓN DEL ESPÉCIMEN**

El suero debe ser preparado de un espécimen de sangre entera obtenida por medio de técnicas médicas aceptables. Este equipo de prueba es para uso solamente con muestras de suero sin aditivos.

### **ALMACENAMIENTO E INSTRUMENTACION**

Los kits de prueba sin abrir deben almacenarse a 2-8 ° C al ser recibidos y la placa de microtitulación debe mantenerse en una bolsa sellada con desecantes para minimizar la exposición al aire húmedo. Los equipos de prueba abiertos permanecerán estables hasta la fecha de expiración mostrada, siempre y cuando sean almacenados como anteriormente se indicó. Un lector de placas de microtitulación con un ancho de banda de 10 nm o menor y un rango de densidad óptica de 0-2 DO o mayor a 450 nm de longitud de onda es aceptable para uso en la medición de la absorbancia.



"Rápida solución a tus necesidades clínicas"

#### ***Distribuido por:***

DIAGNÓSTICA INTERNACIONAL S.A. de C.V.  
Rudyard Kipling 4886 Col. Jardines de la Patria  
CP 45110 Zapopan, Jalisco, México  
**Lada sin costo:** 01 800 440 0404 c/ 10 líneas  
**Tel:** 01 (33) 3770 1940 c/ 10 líneas

## PREPARACIÓN DEL REACTIVO

1. Todos los reactivos deben ser traídos a la temperatura ambiente (18 - 25 °C) antes de su uso.
2. Reconstituya cada estándar liofilizado con 0.5 mL de agua destilada. Permita que el material reconstituido repose por al menos 20 minutos y mezcle cuidadosamente. Los estándares reconstituidos serán estables hasta por 30 días siempre y cuando sean almacenados de 2-8 °C.
3. Diluya 1 volumen de búfer concentrado (50x) con 49 volúmenes de agua destilada. Por ejemplo, diluir 15 mL de búfer concentrado (50x) en agua destilada para preparar 750 mL de búfer de lavado (1x). Mezcle bien antes de su uso.

## PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

1. Asegure el número deseado de pozos cubiertos en el soporte.
2. Dispense 50µL de estándar, muestras, y controles en los pozos apropiados.
3. Dispense 100 µL de Reactivo de Enzima Conjugada en cada pozo.
4. Mezcle por 10 segundos. Es muy importante tener un mezclado completo en este paso.
5. Incube a temperatura ambiente (18 - 25°C) por 60 minutos.
6. Retire la mezcla de incubación con pequeños golpes de los contenidos de la placa en el lavabo.
7. Enjuague y de pequeños golpes a los pozos de microtira 5 veces con búfer de lavado (1x).
8. Golpetee los pozos sobre el papel absorbente o toallas de papel para remover todas las gotas de agua residuales.
9. Dispense 100 µL de Reactivo TMB en cada pozo. Mezcle cuidadosamente por 5 segundos.
10. Incube a temperatura ambiente en la oscuridad por 20 minutos.
11. Frene la reacción al agregar 100 µL de solución de paro a cada pozo.
12. Mezcle suavemente por 5 segundos. Es importante asegurarse que todo el color azul cambie a color amarillo totalmente.
13. Lea la densidad óptica a 450 nm con un lector de micropozos.

**Nota importante:** El procedimiento de lavado es crítico. Un lavado insuficiente resulta en una pobre precisión y lecturas de absorbancia falsamente elevadas.

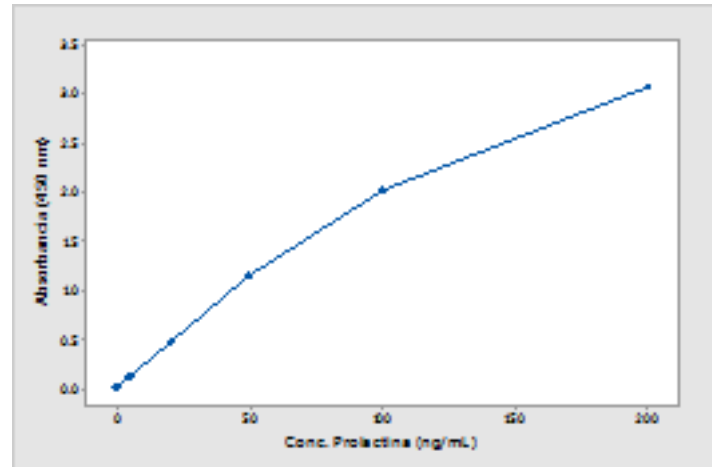
## CÁLCULO DE LOS RESULTADOS

Calcule el valor de absorbancia media ( $A_{450}$ ) para cada juego de estándares de referencia, especímenes, controles, y muestras de pacientes. Elabore una curva estándar al trazar la absorbancia media obtenida de cada estándar de referencia comparada con su concentración en ng/mL sobre el papel cuadrícula, con los valores de absorbancia sobre el eje vertical (Y) y las concentraciones sobre el eje horizontal (X). Utilizando el valor de absorbancia media para cada muestra, determine la concentración correspondiente de Prolactina en ng/mL desde la curva estándar.

## EJEMPLO DE CURVA ESTÁNDAR

Los resultados de una corrida estándar típica con lecturas de densidad óptica a 450 nm mostradas en el eje Y contra las concentraciones de prolactina mostradas en el eje X. Esta curva estándar es con el propósito de ilustrar solamente, y no debe ser utilizada para hacer cálculos desconocidos. Cada usuario debe obtener sus propios datos y curva estándar en cada experimento.

Prolactina (ng/mL)	Absorbancia (450 nm)
0	0.010
5	0.121
20	0.472
50	1.158
100	2.022
200	3.077



Cada laboratorio debe establecer sus propios valores de referencia basado en la población de pacientes. Sobre la base de un número limitado de muestras de sangre de adultos sanos, las concentraciones medias de prolactina en hombres (n=90) y mujeres (n=120) se estiman en 6 y 15 ng/mL, respectivamente. La concentración mínima de la prolactina humana por este ensayo se estima en 2 ng/mL.

## VALORES Y SENSIBILIDAD ESPERADOS

Cada laboratorio debe establecer sus propios rangos normales basados en la población de pacientes. Diferencias en la técnica de ensayo y la aplicación de normas distintas pueden afectar los resultados. La información proporcionada a continuación se cita en la referencia # 14.

Adulto	ng/mL
Masculino	3.0 -14.7
Femenino	3.8 - 23.2
Embarazo, durante el tercer trimestre	95.0 - 473.0

## LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Existen algunas limitaciones del ensayo.

1. Al igual que con todas las pruebas de diagnóstico, un diagnóstico clínico definitivo no debe basarse en los resultados de una sola prueba, pero sólo debe ser realizada por el médico después de haber evaluado todos los hallazgos clínicos y de laboratorio.
2. Estudios han implicado a posibles interferencias en los resultados de inmunoensayo en algunos pacientes con factor reumatoide y anticuerpos antinucleares. Las muestras de suero de pacientes que han recibido infusiones que contienen anticuerpos monoclonales de ratón para fines de diagnóstico o terapéuticos, pueden contener anticuerpos frente a la proteína de ratón (HAMA). Aunque se han añadido algunos agentes para evitar las interferencias, no se puede garantizar que se eliminen todos los efectos de estas.
3. El procedimiento de lavado es crítico. Un lavado insuficiente resulta en una pobre precisión y lecturas de absorbancia falsamente elevadas. El uso de agua del grifo para el lavado podría resultar en

una absorbancia de fondo más alta.

## REFERENCIAS

1. Shome, B. and Parlow, A.F., *J Clin. Endocrinol. Metab.*, 45, 1112-1115, (1977).
2. Niall, M.O. et al, "The Chemistry of Growth Hormone and the Lactogenic Hormones"; *Recent Progr. Horm. Res.* 29:471 (1974).
3. Friesen, H. and Hwang, P., *Ann. Rev. Medicine*, 24, 251-270, (1973).
4. Cowden, EA, Ratcliffe, WA, Beastall, G.H., and Ratcliffe, J.G., *Annals Clin. Biochem.*, 16., 113-121, (1979).
5. Frantz, A.G., *N. Engl. J Med.*, 298, 201-207, (1978).
6. Thorner, M.O., Edwards, CRW, Haker, J.P., Abraham, G., and Besser, G.M., "The Testes in Normal and Infertile Men"; Troen, P and Nankin, H.R (eds.), Raven Press, New York, 351-366, (1977).
7. Daughday, WH., "The Adenohypophysis, *Textbook of Endocrinology*"; Williams, 6th Ed., Chapter 3, 87-87, (1981).
8. Tyson, JE., Hwang, P, Guyela, H, Friesen, H.G, *Am. J Obstet. Gynecol.* 113, 14-20 (1972).
9. Aubert, ML, Grumbach, M.M. and Kaplan, SL, *Acta Endocrin.* 77, 460-476 (1974).
10. Jacobs, L, Snyder, P, Wilber, J, Utiger, R, and Daughday, W, *J Clin. Endocrin.* 33:996, (1978).
11. Engvall, E, "Methods in Enzymology", Volume 70, VanVunakis H. and Langone, J.J. (eds.). Academic Press, New York, NY, 419-492, (1980).
12. Uotila, M., Ruuslahti, E. And Engvall, E, *J Immunol. Methods*, 42, 11-15, (1981).
13. USA Center for Disease Control/National Institute of Health Manual, "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories", 1984.
14. *Clinical Guide to Laboratory Tests*, 3'd Edition. Edited By Norbert W Tietz. p. 410. WB. Saunders Company, (1995).
15. USA Center for Disease Control/National Institute of Health Manual, "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories", 1984.

**Diagnóstica**  
Internacional



"Rápida solución a tus necesidades clínicas"

**FABRICADO POR:**  
INTERNATIONAL IMMUNO-DIAGNOSTICS  
1155 CHESS DRIVE No. 121  
FOSTER CITY, CA 94404 USA