



LIAISON® Prolactin (312151) Пролактин

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Количественное определение пролактина в человеческой сыворотке и плазме методом хемилюминесцентного иммуноанализа (CLIA) с помощью анализаторов линейки LIAISON®.

2. ВВЕДЕНИЕ

Пролактин, одноцепочечный пептидный гормон длиной в 198 аминокислотных остатка и молекулярной массой около 23 кД, синтезируется ацидофильными клетками передней доли гипофиза. Высвобождение гормона контролируется гипоталамусом: дофамин и дофаминэргические вещества ингибируют секрецию пролактина, тогда как пролактин-рилизинг факторы (в основном тиреотропин-рилизинг гормон, ТРГ) ее стимулируют.

Пролактин играет важную роль в индукции и поддержании лактации, основным органом-мишенью действия пролактина является молочные железы беременных и кормящих женщин. Гормон оказывает существенное влияние на развитие молочных желез и лактогенез. На протяжении периода беременности и вскармливания концентрация пролактина существенно повышается.

Гиперпролактинемия характеризуется крайне высокими концентрациями пролактина, главным образом обусловленными аденомой гипофиза (пролактинома), гипотиреозом или почечной недостаточностью.

У женщин определение пролактина в первую очередь показано в случае дисменореи (в частности первичной аменореи), галактореи, бесплодия, так же как и при заболеваниях гипофиза и гипоталамуса. У мужчин повышение концентрации пролактина указывает на потерю либидо и импотенцию, гипогонадизм или галакторею.

3. ПРИНЦИП МЕТОДА

Метод количественного определения пролактина представляет собой 1-ступенчатый хемилюминесцентный иммуноанализ (CLIA) по принципу сэндвича. Мышиные моноклональные антитела к пролактину связаны с магнитными микрочастицами (твердая фаза) и мечены производным изолюминола (конъюгат антител с красителем). Во время инкубации молекулы пролактина, присутствующие в калибраторах, контролях и пробах, связываются с антителами твердой фазы и, затем, с антителами, мечеными изолюминолом. Сэндвич образуется только при наличии в пробе молекул пролактина. После инкубации несвязавшиеся молекулы удаляются во время цикла промывки. Затем к реакционной смеси добавляются реактивы для активации, индуцирующие хемилюминесцентную реакцию. Интенсивность люминесценции, измеряемая с помощью фотоумножителя в относительных единицах интенсивности, отражает концентрацию пролактина в калибраторах, контролях и пробах пациентов.

4. СОСТАВ НАБОРА

Магнитные частицы (2,3 мл)	Магнитные частицы, покрытые мышиными моноклональными антителами к пролактину; 0,09% азид натрия.
Калибратор 1 (1,0 мл)	Содержится пролактин гипофиза человека; БСА; 0,09% азид натрия.
Калибратор 2 (1,0 мл)	Содержится пролактин гипофиза человека; БСА; 0,09% азид натрия.
Конъюгат (23 мл)	Мышиные моноклональные антитела к пролактину, меченные производным изолюминола (аминобутилэтилизолуминолом); 0,09% азид натрия.
Количество определений	100

Все реактивы готовы к использованию.

Необходимые материалы, не входящие в набор

Анализаторы LIAISON® XL	Анализаторы LIAISON®
Кюветы (каталожный номер X0016). Одноразовые наконечники (каталожный номер X0015). Набор запускающих реактивов XL (каталожный номер 319200).	Реакционные модули (каталожный номер 319130).
Системная / промывочная жидкость (каталожный номер 319100). Мешки для отходов XL (каталожный номер X0025) Набор растворов для обслуживания игл дозаторов и мощней станции (каталожный номер 310995).	Набор запускающих реактивов (каталожный номер 319102) или набор запускающих реактивов XL (каталожный номер 319200). Реактив для ежедневной проверки анализатора (каталожный номер 319150). Системная / промывочная жидкость (каталожный номер 319100). Мешки для отходов (каталожный номер 450003). Набор растворов для обслуживания анализатора (каталожный номер 310990).

5. ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ

Только для In vitro диагностики.

Все образцы человеческой сыворотки/плазмы, использованные для производства набора, были протестированы на наличие антител к вирусу гепатита С, ВИЧ 1 и ВИЧ 2, а также HBs-антигена и были признаны отрицательно реагирующими в вышеуказанных тестах. Но, поскольку не существует метода исследований, который бы гарантировал полную инфекционную безопасность биоматериалов человеческого происхождения, рекомендуется обращаться с набором, как с потенциально инфекционным.

6. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Не употребляйте пищу, напитки, не курите и не наносите косметику в лаборатории, где проводятся анализы.

Не переливайте растворы ртом.

Избегайте прямого контакта со всеми потенциально инфекционными материалами, надевая защитную одежду, такую как лабораторные халаты, защитные очки и одноразовые перчатки. В конце каждого анализа тщательно мойте руки.

Избегайте всплесков или образования аэрозолей. Любую утечку биологического реагента следует смыть с помощью раствора гипохлорита натрия с 5%-ным активным хлором и утилизировать как инфекционные отходы.

Все образцы и реагенты, содержащие биологические материалы, используемые в анализе, должны считаться потенциально способными передавать инфекционные агенты. С отходами следует обращаться с осторожностью и утилизировать их в соответствии с лабораторными нормами и нормами законов, действующими в стране. Любые материалы, подлежащие повторному использованию, должны быть надлежащим образом стерилизованы в соответствии с местными законами и нормами.

Проверяйте эффективность цикла стерилизации/обеззараживания.

Реагенты, содержащие азид натрия (<0,1 %) [ЕС №247-852-1]:

DIRECTIVE	EC No. 1272/2008
HAZARD / RISK STATEMENTS	EUH 210 - Safety data sheet available on request

7. ПОДГОТОВКА ИНТЕГРАЛЬНОГО КАРТРИДЖА РЕАКТИВОВ

7.1 Интегральный картридж реактивов.

Пожалуйста, обратите внимание на следующие важные меры предосторожности при работе с реагентами:

Ресуспендирование магнитных частиц

Магнитные частицы должны быть полностью ресуспендированы до того, как интеграл будет помещен в прибор. Чтобы обеспечить полное ресуспендирование частиц, выполните следующие действия:

Перед удалением алюминиевых мембран с флаконов, проверните колесо флакона с магнитными частицами, пока цвет суспензии не станет равномерно коричневым. Аккуратно перемешайте их содержимое, держа интеграл горизонтально, чтобы избежать пенообразования. Осмотрите нижнюю часть флакона, чтобы убедиться, что все магнитные частицы были ресуспендированы.

При необходимости повторите процедуру до полного ресуспендирования магнитных частиц.

После удаления алюминиевой мембраны тщательно протрите поверхность каждого флакона для удаления остатков жидкости, если необходимо.

Вспенивание реагентов

Чтобы обеспечить оптимальные рабочие характеристики интеграла, следует избегать пенообразования реагентов. Придерживайтесь приведенных ниже рекомендаций по предотвращению вспенивания:

Перед использованием интеграла осмотрите реагенты, чтобы убедиться в отсутствии пены. Если после ресуспендирования магнитных частиц пена появилась, поместите интеграл в анализатор и подождите, пока пена исчезнет. Интеграл готов к использованию только тогда, когда пена исчезла, а интеграл с ресуспендированными частицами находится на борту.

Установка интеграла в область загрузки реактивов

Анализатор LIAISON®

- Установите интеграл в область загрузки реактивов анализатора так, чтобы штрих-код был расположен слева, и оставьте для перемешивания магнитных частиц в течение 30 минут. Анализатор автоматически перемешивает и полностью ресуспендирует магнитные частицы за это время.
- Следуйте инструкции по эксплуатации анализатора для загрузки проб и начала исследования

Анализатор LIAISON® XL

- Анализатор LIAISON® XL оснащен встроенным твердотельным магнитным устройством, которое помогает ресуспендировать микрочастицы до размещения интеграла с реагентами в области загрузки реактивов анализатора. Для уточнения деталей обратитесь к руководству по эксплуатации анализатора.

а. Вставьте интеграл с реагентами в специальный разъем.

б. Оставьте интеграл с реагентами в твердотельном магнитном устройстве, по крайней мере, на 30 секунд (допускается до нескольких минут). Повторите по мере необходимости.

- Установите интеграл в область загрузки реактивов анализатора так, чтобы штрих-код был расположен слева, и оставьте для перемешивания магнитных частиц в течение 15 минут. Анализатор автоматически перемешивает и полностью ресуспендирует магнитные частицы за это время.
- Следуйте инструкции по эксплуатации анализатора для загрузки проб и начала исследования

8. ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ ИНТЕГРАЛЬНОГО КАРТРИДЖА РЕАКТИВОВ

Всегда храните интегралы в вертикальном положении, в противном случае последующее перемешивание магнитных частиц будет затруднено. Избегайте попадания прямых солнечных лучей.

Невскрытые реактивы стабильны до окончания срока годности при условии их хранения в вертикальном положении при температуре 2-8°C. Запрещается замораживать реактивы, входящие в состав картриджа. Запрещается использовать интеграл после окончания срока годности, указанного на этикетке интеграла. После вскрытия интеграла (удаления алюминиевых мембран) его содержимое стабильно в течение не менее **4 недель** при условии хранения при температуре 2-8°C в холодильнике или на борту анализатора. После окончания этого периода использование интеграла возможно при условии, если результаты исследования контрольных сывороток лежат в допустимых пределах.

9. ПОДГОТОВКА ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА

Сыворотка или плазма. ЭДТА может быть использован в качестве антикоагулянта. Сыворотка/плазма должна быть отделена от клеток после забора крови как можно скорее. Для поддержания цельности пробы добавление дополнительных консервантов не требуется. Мутные, липемичные пробы, а также пробы с твердыми частицами и дебрисом эритроцитов перед исследованием могут потребовать дополнительной очистки путем фильтрации или центрифугирования. Не рекомендуется исследовать сильно гемолизированные и липемичные пробы, а также пробы с признаками бактериальной контаминации. Перед установкой пробы в анализатор необходимо удалить все пузырьки с ее поверхности.

Стабильность: 24 часа при температуре 2-8°C. Для более длительного хранения пробы должны быть заморожены при температуре -20°C или ниже. После разморозки пробу необходимо аккуратно перемешать. Избегайте повторного замораживания пробы.

Минимально необходимый объем 175 μ л (25 μ л на исследование + 150 μ л мертвый объем).

Для разведения сывороток с крайне высокой концентрацией пролактина можно использовать раствор человеческого альбумина (5%). В качестве альтернативного варианта можно использовать человеческую сыворотку с низким содержанием пролактина (<40 мМЕ/л), в таком случае необходимо учесть концентрацию пролактина в ней при конечном расчете.

10. КАЛИБРОВКА

Исследование калибраторов, входящих в состав интеграла, позволяет перекалибровать мастер-кривую, хранящуюся в памяти анализатора, с использованием значений концентрации калибраторов, зашифрованных в штрих-коде этикетки интеграла.

Калибровка должна быть проведена в двух повторах в следующих случаях:

- Используется новая серия набора реактивов или набора запускающих реактивов.
- Прошло более 14 дней с момента последней калибровки.
- Было проведено обслуживание анализатора.
- Результаты исследования контрольных сывороток выходят за пределы допустимого диапазона.

Анализатор LIAISON[®]: значения концентраций калибратора содержатся в штрих-коде интеграла.

Анализатор LIAISON[®] XL: значения концентраций калибратора содержатся в радиочастотной метке.

11. ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

Строгое следование рекомендациям инструкции пользователя гарантирует получение корректных результатов.

Анализатор LIAISON[®]. Для идентификации каждой методики используется информация, зашифрованная в штрих-коде этикетки интеграла. Если информации с штрих-кода не читается, то картридж является негодным к использованию и должен быть утилизирован (см. Инструкцию пользователя).

Процедура анализа, выполняемого анализатором, состоит из следующих стадий:

- Раскапывание калибраторов, контролей или проб в кюветы реакционного модуля.
- Добавление конъюгата и магнитных частиц.
- Инкубация.
- Промывка Системной/промывочной жидкостью.
- Добавление запускающих реактивов и измерение интенсивности флуоресценции.

Анализатор LIAISON[®] XL. Для идентификации каждой методики используется информация, зашифрованная в радиочастотной метке интеграла. Если информации с радиочастотной метки не читается, то картридж является негодным к использованию и должен быть утилизирован (см. Инструкцию пользователя).

Процедура анализа, выполняемого анализатором, состоит из следующих стадий:

- Раскапывание магнитных частиц и конъюгата в кюветы.
- Добавление калибраторов, контролей или проб.
- Инкубация.
- Промывка Системной/промывочной жидкостью.
- Добавление запускающих реактивов и измерение интенсивности флуоресценции.

12. КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Каждая лаборатория должна установить частоту проведения контроля качества самостоятельно.

Для контроля качества необходимо использовать контроль производства компании DiaSorin или другой коммерческий контроль:

- а. по меньшей мере 1 раз в день перед постановкой проб пациентов
- б. каждый раз при использовании нового реагентного картриджа
- в. Каждый раз после калибровки набора
- г. каждый раз при использовании нового лота Starter Kit
- д. для того, чтобы оценить адекватность работы открытого интеграла через 4 недели в соответствии с руководящими принципами или требованиями местных нормативных актов или аккредитованных организаций.

Контроли LIAISON® следует ставить в 1 повторности для контроля эффективности анализа. Контрольные значения должны лежать в пределах ожидаемого диапазона: всякий раз, когда один или оба контроля находятся за пределами ожидаемых диапазонов, следует провести калибровку и повторить тестирование контроля. Если контрольные значения, полученные после успешной калибровки, повторно выходят за пределы предварительно определенных диапазонов, тестирование следует повторить с использованием неоткрытого контрольного флакона. Если контрольные значения лежат вне ожидаемых диапазонов, результаты не должны сообщаться пациенту. Эффективность других контролей должна оцениваться на совместимость с данным анализом перед их использованием. Затем следует установить соответствующие диапазоны значений для используемых материалов контроля качества.

13. ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Анализатор автоматически рассчитывает концентрацию пролактина в мМЕ/л. За более подробной информацией обратитесь к Инструкции пользователя. Результаты измерений калибраторов и контролей анализаторами LIAISON® и LIAISON® XL в относительных световых единицах (RLU) или концентрационных единицах могут различаться, но результаты анализов проб пациентов будут одинаковыми.

13.1 Стандартизация

Исследование откалибровано с использованием 3 международной референсной подготовки 84/500 ВОЗ.

13.2 Диапазон исследования

До 8000 мМЕ/мл пролактина.

Факторы конверсии:

1 нг/мл x 21.2 = 21.2 мМЕ/мл

1 мМЕ/мл x 0.047 = 0.047 нг/мл

13.3 Референсные границы

В соответствии с общепринятой лабораторной практикой каждая лаборатория должна установить собственные референсные значения, отражающие их типовую популяцию. В качестве ориентировочных значений можно использовать приведенные ниже данные.

С помощью набора реактивов LIAISON® Prolactin было исследовано 252 пробы здоровых доноров крови. Полученные результаты приведены ниже:

Референсная группа	Диапазон (5-95% перцентили), мМЕ/л
Мужчины	87-392
Женщины:	
в репродуктивном возрасте	132-498
в пост-менопаузе	90-392

14. ОГРАНИЧЕНИЯ

Строгое следование инструкциям к прибору и реактиву необходимо для получения достоверных результатов.

Бактериальная контаминация или нагревание пробы могут повлиять на результат исследования.

При интерпретации результатов измерения концентрации пролактина следует учитывать то, что концентрация пролактина у женщин очень сильно зависит от различных внешних факторов:

- физический стресс (особенно хирургическое вмешательство или гинекологический осмотр);
- психологический стресс
- лекарственные препараты (ТРГ, эстрогены, дофамин, частично инсулин);
- диеты (влияние незаменимых аминокислот);
- пальпация молочной железы или раздражение из-за вскармливания ребенка.

Ложно завышенные значения концентрации пролактина могут обнаруживаться при макропролактинемии (синоним: псевдогиперпролактинемия).

Пробы пациентов, получающих препараты мышинных моноклональных антител в целях терапии или диагностики, могут

содержать анти-мышинные антитела (НАМА). Результаты исследования таких проб с помощью иммунологических методик, основанных на использовании моноклональных антител, могут быть завышены или занижены. Несмотря на то, что НАМА-нейтрализующие компоненты входят в состав реактивов, слишком высокие концентрации НАМА могут случайным образом исказить результаты измерений.

Повышенная концентрация сывороточного пролактина сама по себе не может служить доказательством наличия опухоли гипофиза, диагностика должна всегда проводиться с учетом данных истории болезни и других диагностических исследований.

Запрещается обмениваться интегралами между анализаторами LIAISON® и LIAISON® XL. Интеграл, однажды установленный на анализатор определенного типа, должен использоваться на этом анализаторе до самого конца. Запрещается оценивать динамику концентрации по результатам, полученным на разных типах анализаторов. Такие измерения должны быть выполнены на одном конкретном типе анализатора (либо LIAISON®, либо LIAISON® XL).

15. СПЕЦИФИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ИССЛЕДОВАНИЯ

15.1 Аналитическая специфичность.

Аналитическую специфичность можно определить, как способность теста безошибочно выявлять специфический аналит в присутствии потенциально мешающих факторов в матриксе пробы (например, гемолиза, липемии или билирубинемии).

15.2 Интерференция: контролируемые исследования потенциально мешающих факторов или условий протестировали, что характеристики теста не менялись в присутствии гемолиза (вплоть до концентрации гемоглобина 1000 мг/дл), липемии (вплоть до концентрации триглицеридов 30 мг/мл), билирубинемии (вплоть до концентрации билирубина 0,2 мг/мл).

15.3 Перекрестная реактивность

Перекрестная реактивность ЛГ, ФСГ, ТТГ, ХГЧ, гормона роста и лактогенного гормона плацентарного происхождения в физиологически соответствующих диапазонах концентраций не обнаружена.

Макропролактин. В разных сыворотках пролактин может быть представлен разными формами, известными как «большой» и «очень большой» пролактин. Последняя является преобладающей циркулирующей формой и представлена пролактин- IgG комплексом (макропролактин). Макропролактин может исказить результаты иммунологических исследований, что приводит к ложноположительным результатам при определении пролактина (9,10).

В случае подозрения в завышенных значениях пролактина, наличие макропролактина может быть обнаружено с помощью осаждения полиэтилен гликолем (ПЭГ) IgG. Для последующего анализа необходимо брать надосадочную жидкость после центрифугирования. Получение результатов концентрации пролактина после восстановления ниже 70% от первоначальной, указывает на присутствие макропролактина и, как следствие, начальные значения пролактина должны быть оценены с осторожностью.

С помощью LIAISON® Prolactin могут быть исследованы образцы сыворотки крови после обработки ПЭГ (методы представлены в литературе) (9). Каждая лаборатория должна выбрать и валидировать свой метод осаждения ПЭГ.

15.4 Точность при исследовании на анализаторе LIAISON®

Различные пробы, содержащие разные концентрации специфического аналита, были проанализированы с целью определения повторяемости и воспроизводимости теста (то есть вариабельности внутри серии и между сериями).

Вариация внутри серии			Вариация между сериями		
Среднее значение (мМЕ/л)	КВ (%)	Кол-во	Среднее значение (мМЕ/л)	КВ (%)	Кол-во
43,4	3,2	40	39,4	6,4	52
801,5	2,6	40	855,0	2,9	52
1985,3	2,7	40	2090,3	3,4	52
6753,2	3,1	40	7049,7	4,5	52

15.5 Точность при исследовании на анализаторе LIAISON® XL

Различные пробы, содержащие разные концентрации специфического аналита, были проанализированы с целью определения повторяемости и воспроизводимости теста (то есть вариабельности внутри серии и между сериями).

Вариация внутри серии			Вариация между сериями		
Среднее значение (мМЕ/л)	КВ (%)	Кол-во	Среднее значение (мМЕ/л)	КВ (%)	Кол-во
42,1	2,8	20	49,7	3,2	20
809,4	2,4	20	870,4	4,5	20
1496,4	2,2	20	1168,0	2,9	20
7620,1	2,5	20	6760,9	3,9	20

15.6 Правильность исследования

Правильность исследования была определена с помощью теста разведения и восстановления.

15.7 Тест разведения.

Пробы (сыворотка) с высокой концентрацией пролактина были исследованы перед и после серии разведений дилуентом (пункт 9). Результаты были проанализированы с помощью метода линейной регрессии. В таблице представлены результаты линейного разведения проб. Начальная концентрация: 2090 мМЕ/л; дилуент 1:4.

Разведение	Полученные значения (мМЕ/л)	Ожидаемые значения (мМЕ/л)	Восстановление (%)
1:1,25	1724	1672	103
1:1,67	1263	1254	101
1:2,5	868	837	104
1:5	456	419	109
1:10	223	210	106

15.8 Тест восстановления.

Пробы с внесением пролактина были исследованы с помощью LIAISON® Prolactin.

В таблице представлены результаты восстановления разного количества пролактина внесением натуральной сыворотки (64мМЕ/л).

Полученные значения (мМЕ/л)	Ожидаемые значения (мМЕ/л)	Восстановление (%)
3896	3897	100
2852	2939	97
1998	1981	101
1032	1023	101
537	543	99

15.9 Эффект высокой дозы

Эффекта насыщения не наблюдалось до концентрации пролактина 700000 мМЕ/л.

При исследовании проб с крайне высокой концентрацией аналита, может наблюдаться эффект занижения результатов за счет влияния эффекта насыщения. Оценка влияния эффекта насыщения была проведена путем исследования пяти высококонцентрированных пролактин-смешанных образцов. Результат анализа, как и ожидалось, превышал верхнюю границу измеряемого диапазона и, значит, не привел к ошибочной классификации пробы.

15.10 Аналитическая и функциональная чувствительность:

Аналитическая чувствительность:

определенная как минимальная концентрация от 0 с 2 стандартными отклонениями составила менее 2 мМЕ/л.

Функциональная чувствительность:

определенная как концентрация внутри серии, коэффициент вариации которой <20% составила <4 мМЕ/л.