

Product information

Information about other products is available at: www.demeditec.com



User's Manual

Prolactin rat ELISA

RUO

REF

DEV9966



96 Wells

CONTENTS

1. INTRODUCTION..... 3
2. PRINCIPLE 3
3. WARNINGS AND PRECAUTIONS..... 4
4. REAGENTS..... 5
5. SPECIMEN..... 6
6. ASSAY PROCEDURE 6
7. EXPECTED NORMAL VALUES 8
8. PERFORMANCE CHARACTERISTICS 9
9. LIMITATIONS OF PROCEDURE..... 10
10. REFERENCES 11
11. SHORT INSTRUCTION..... 12

INHALTSVERZEICHNIS

1. EINLEITUNG..... 13
2. METHODIK UND TESTPRINZIP 13
3. HINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN..... 14
4. MITGELIEFERTE KOMPONENTEN 15
5. PROBENENTNAHME UND –VORBEREITUNG 16
6. TESTDURCHFÜHRUNG 16
7. NORMALWERTE 18
8. TESTCHARAKTERISTIKA 19
9. LIMITATIONEN 20
10. LITERATUR 21
11. KURZANLEITUNG..... 22

SYMBOLS USED WITH DEMEDITEC ELISAS 23

1. INTRODUCTION

1.1. INTENDED USE

The Demeditec Prolactin rat ELISA is an enzyme-immunoassay for the quantitative measurement of prolactin in rat serum.

1.2. SUMMARY AND EXPLANATION

Rat prolactin (rPRL) is a single-chain polypeptide hormone of the rat anterior pituitary with a molecule mass of approximately 23,000. Prolactin from different species exhibits significant variations in the amino acid sequence. Rat prolactin differs from human prolactin at about 50 percent of all residues.

The secretion of rPRL from the pituitary is inhibited by hypothalamic prolactin-inhibitory factor (PIF). Although dopamine was long thought to be this PIF molecule, today it seems that there is a special peptide with prolactin-inhibiting activities.

The release of prolactin is certainly stimulated by different peptides, particularly thyrotropin releasing hormone (TRH) and vasoactive intestinal peptide (VIP). There is also evidence that rat posterior pituitary lobe contains a special prolactin releasing hormone.

The most important role of prolactin is stimulation of mammary gland growth and lactation. During pregnancy, blood prolactin levels climb, but the increases can differ enormously between rats. High prolactin levels are observed during lactation. Prolactin has a wide variety of other physiological actions, for example on the ovary. In the rat, prolactin has a luteotrophic effect which is not seen in many other species. Furthermore, prolactin is a stress hormone.

In rats, as in humans, prolactin exhibits a sleep-related diurnal variation. Peak values are seen in the late afternoon and nadir values in the morning.

Because of the variety of its actions, prolactin is one of the preferred hormones to monitor when testing the influence of new therapeutic agents and drugs on the endocrine system in the rat.

2. PRINCIPLE

The Demeditec Prolactin rat ELISA kit is a solid phase enzyme immunometric assay (ELISA) in the microplate format, designed for the quantitative measurement of rat prolactin. The microplate is coated with a first monoclonal antibody specific for rat prolactin.

Calibrators and samples are pipetted into the antibody coated microplate. During a 2 hours incubation endogenous rat prolactin in the sample bind to the antibodies fixed on the inner surface of the wells. Non-reactive sample components are removed by a washing step.

Afterwards, a second polyclonal horseradish peroxidase-labeled antibody, directed against another epitope of the prolactin molecule, is added. During another 1 hour incubation, a sandwich complex consisting of the two antibodies and the rat prolactin is formed. An excess of enzyme conjugate is washed out.

A chromogenic substrate, TMB (3,3',5,5'-Tetra-Methyl-Benzidine), is added to all wells. During a 30 minutes incubation, the substrate is converted to a colored end product (blue) by the fixed enzyme. Enzyme reaction is stopped by dispensing of hydrochloric acid as stop solution (change from blue to yellow). The color intensity is direct proportional to the concentration of rat prolactin present in the sample.

The optical density of the color solution is measured with a microplate reader at 450 nm. Bi-chromatic measurement with a 600 - 690 nm reference filter is recommended.

3. WARNINGS AND PRECAUTIONS

All reagents of this test kit are strictly intended for veterinary research use only. Use by staff, who is specially informed and trained in methods which are carried out by use of immunoassays.

Please adhere strictly to the sequence of pipetting steps provided in this protocol.

All reagents should be stored refrigerated at 2 - 8 °C in their original container. Do not interchange kit components from different lots and assays. The expiration dates stated on the labels of the shipping container and all vials have to be observed. Do not use kit components beyond their expiration dates. Allow all kit components and specimen to reach room temperature (18 – 28 °C) prior to use and mix well.

During handling of all kit reagents, control and serum samples observe the existing legal regulations handling potentially infectious materials. Especially the following precautions should be taken:

- do not eat, drink or smoke
- do not pipette by mouth, use safety pipettes
- wear disposable gloves and avoid contact with kit reagents, control and sample material.

The test kit contains components of veterinary origin which were found negative for Hepatitis B surface antigen and HIV (Human Immunodeficiency Virus). Nevertheless, for products derived from human or animal source it cannot be completely guaranteed, that they do not contain the above mentioned, others and not yet known or not diagnosticable pathogens. Sample material of patients (for example serum or plasma) normally used in laboratory determinations are always classified as potentially infectious. According to the same safety guides, kit reagents and control material are to be used. Samples of risk patients should be specially labeled and if necessary be handled in safety work benches (lamina flow bench).

The assay reagents contain against microbial growth preservation substances, avoid contact with skin and/or mucous membranes.

Avoid contact with the TMB (3,3',5,5'-Tetra-Methyl-Benzidine) substrate solution containing peroxide. If it comes into contact with skin, wash thoroughly with water. Avoid contact with any easily oxidized materials. Extreme temperature changes may cause spontaneous decay of the peroxide. Avoid the contact with the stop solution containing acid. By skin contact, wash thoroughly with water. All instrumentation employed to dispense the stop solution should be thoroughly cleaned after use.

4. REAGENTS

4.1. REAGENTS PROVIDED

1. **Divisible microplate**, 12 x 8 (break apart) strips with 96 wells, ready to use
Removable wells coated with a monoclonal anti-rat prolactin antibody.
2. **Rat Prolactin Master Calibrator**, 1 vial, 80 ng, lyophilized,
in serum/buffer matrix containing highly purified rat prolactin,
For reconstitution see "Reagent preparation".
3. **Rat Prolactin Calibrator/Sample Diluent**, 1 vial, 6 ml, ready to use
rat prolactin free
4. **Enzyme-Labeled Rat Prolactin Antibody**, 1 vial, 22 ml, red, ready to use
containing horseradish peroxidase-labeled polyclonal anti rat prolactin antibody in a buffered
solution with preservative
5. **Rat Prolactin Sample Buffer**, 1 vial, 6 ml, yellow, ready to use
6. **TMB-Substrate Solution**, 1 vial, 22 ml, ready to use
3,3',5,5'-Tetra-Methyl-Benzidine in buffered peroxide solution
7. **Stop Solution**, 1 vial, 7 ml, ready to use
containing 2 M hydrochloric acid
8. **Wash Buffer Concentrate**, 1 vial, 50 ml, 10 x concentrated,
See "Reagent preparation".

4.2. MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

- Microplate reader capable for endpoint measurements at 450 nm (optional reference filter in the range of 600 - 690 nm)
- Vortex mixer
- Microplate mixer operating at 900 rpm
- Distilled or deionized water
- Graduated cylinder for 500 ml
- Plastic containers for storage of the wash solution
- Adjustable pipette for up to 1000 µl
- Dispenser or repeatable pipet for 25 µl, 50 µl, and 200 µl

4.3. REAGENT PREPARATION

Calibrators:

Reconstitute lyophilized Rat Prolactin Master Calibrator with **1 ml dest. water** 30 min. before use (end concentration of 80 ng/ml). Make a dilution series with Calibrator/Sample Diluent to get calibrators with 80, 40, 20, 10 and 5 ng/ml.

Wash Buffer:

Dilute with 450 ml dist. water to a final volume of 500 ml.

4.4. STORAGE CONDITIONS

When stored at 2°C to 8°C all reagents are stable until expiration date or 30 days after opening.

The Stop Solution is stable up to 2 months after opening or until the expiration date.

The Wash Buffer is stable for 3 months after dilution or until the expiration date.

Store Calibrators refrigerated, they will be stable at 2°C to 8°C for 7 days after reconstitution or until expiration date. For longer storage freeze at -20°C.

Protect Divisible Microplate from moisture. Store together with desiccant and carefully sealed in the plastic bag.

Protect TMB-Substrate Solution from light.

5. SPECIMEN

For determination of rat prolactin serum is the preferred sample matrix. The procedure calls for 25 µl matrix per well.

Prolactin is one of the most sensitive stress hormones of the rat. Blood collection should therefore be as stress-free as possible.

The samples may be stored refrigerated at 2 – 8 °C for one week, or up to 2 months frozen at –20 °C. To avoid repeated thawing and freezing the samples should be aliquoted.

Samples expected to contain rat prolactin concentrations higher than the highest calibrator (80 ng/ml) should be diluted with the zero calibrator before assay. The additional dilution step has to be taken into account for the calculation of the results.

6. ASSAY PROCEDURE

6.1. GENERAL REMARKS

- Do not interchange components of different lots.
- All components should be at room temperature (18 – 28 °C) before use.
- All components of this test kit, supplied as concentrate should be diluted to their final concentration at least 30 minutes prior to use. Mix well, but prevent of foam formation.
- Use a disposable-tip micropipette to dispense serum samples. Pipet directly to the bottom of the wells. Change the tip between samples, to avoid carryover contamination.
- For internal quality control we suggest to use **Rat Control Set coded DEV99RC. For more information please contact DEMEDITEC.**

6.2. ASSAY PROCEDURE

1. Preparation of calibrators:

Label four tubes: E (40 ng/ml), D (20 ng/ml), C (10 ng/ml) and B (5 ng/ml). Pipet **0.1 ml** of the Calibrator/Sample Diluent into all tubes. Pipet 0.1 ml of the reconstituted Rat Prolactin Master Calibrator into tube E (40 ng/ml), and mix thoroughly. Repeat this process successively to complete the 2-fold dilution series. The reconstituted Rat Prolactin Calibrator will serve as the highest calibrator F (80 ng/ml). Use the Rat Prolactin Calibrator/Sample Diluent as the zero Calibrator A (0 ng/ml).

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
a	A	E	P3	P..								
b	A	E	P3	P..								
c	B	F	P4									
d	B	F	P4									
e	C	P1	P5									
f	C	P1	P5									
g	D	P2	P6									
h	D	P2	P6									

- Pipet **25 µl** of each calibrator, control and patient sample into the wells prepared.
- Add **50 µl** of **Rat Prolactin Sample Buffer** to every well.
- Shake for **2 hours** at room temperature (18 - 28 °C). The mixer should be set at > 900 rpm.
- Discard the content of the wells and wash **4 times** with **300 µl** buffered wash solution. Remove as much wash solution as possible by beating the microplate carefully.
- Add **200 µl** of **Enzyme-Labeled Anti-Rat Prolactin Antibody** to all wells.
- Shake again for **1 hour**.
- Discard the content of the wells and wash **4 times** with **300 µl** buffered wash solution. Remove as much wash solution as possible by beating the microplate carefully.
- Add **200 µl** of liquid **TMB/Substrate Solution** to all wells.
- Incubate without shaking for **30 minutes** in the dark.
- Add **50 µl** of **Stop Solution** to each well and mix carefully.
- Read the optical density at **450 nm**. Bi-chromatic measurement with a reference at 600-690 nm is recommended.

The developed color is stable for at least 30 minutes. Read optical densities during this time.

6.3. CALCULATION OF RESULTS

For evaluation of rat prolactin a 4-Parameter-Fit with lin-log coordinates for optical density (linear scale) and concentration (logarithmic scale) is recommended.

Spline approximation with lin-log coordinates and log-log coordinates are also suitable.

6.3.1. EXAMPLE OF TYPICAL CALIBRATOR CURVE

The figure below shows typical results for Demeditec Prolactin rat ELISA test kits. These data are intended for illustration only and should not be used to calculate results from another run.

	Replicate (OD)	Mean (OD)	Binding (%)	Rat Prolactin (ng/mL)
Calibrators				
A	0.079 ----- 0.067	0.073	-	0
B	0.189 ----- 0.169	0.179	6.9	5
C	0.328 ----- 0.357	0.342	12.7	10
D	0.766 ----- 0.827	0.796	29.7	20
E	1.591 ----- 1.679	1.635	61.0	40
F	2.588 ----- 2.765	2.677	100	80
Unknown Samples				
X 001	0.318 ----- 0.329	0.324	12,1	9.8
X 002	0.577 ----- 0.603	0.590	22,0	16.4
X 003	1,733 ----- 1,698	1,716	64,1	47.3

7. EXPECTED NORMAL VALUES

In a reference range study rat serum samples were collected in the morning between 8 and 9 a.m. and in the evening between 5 and 6 p.m. Diurnal variations have not been observed. Analysis by the Demeditec Prolactin rat ELISA kit yielded the following results:

Group	Absolute Range (ng/ml)	n
Normal female rats	nd - 17.9	15
Normal male rats	nd- - 23.4	10

nd = nondetectable

Because of differences which may exist between laboratories with respect of population, laboratory technique and selection of reference groups, it is recommended that each laboratory establishes its own normal and pathological ranges of rat prolactin. The reference ranges should be regarded as guidelines only.

8. PERFORMANCE CHARACTERISTICS

8.1. ANALYTICAL SENSITIVITY

The lower detection limit for rat prolactin is approximately 0.6 ng/ml.

8.2. SPECIFICITY

The antibodies in the Demeditec Prolactin rat ELISA procedure are highly specific for rat prolactin. Detectable crossreactivities to other hormones that may be present in serum samples are not known.

The following substances were tested:

	added quantity (ng/ml)	measured concentration (ng/ml)	cross-reactivity (%)
Rat TSH	5,000	1.5	0.03
Rat FSH	10,000	5.1	0.5
Rat LH	5,000	nd	-
Rat GH	4,000	nd	-

8.3. REPRODUCIBILITY

Statistics for Coefficients of variation (CV) were calculated for each of three samples from the results of 20 pairs of wells in a single run for Intra-Assay precision and the Inter-Assay precision was calculated from the results of 14 different runs of three samples:

Intra - Assay			
Serum No	Mean \bar{x} (ng/ml)	SD $\pm s$ (ng/ml)	CK (%)
1	6.6	0.20	3.0
2	19.6	0.77	3.9
3	33.0	1.80	5.5

Inter - Assay			
Serum No	Mean \bar{x} (ng/ml)	SD $\pm s$ (ng/ml)	CK (%)
1	6.5	0.28	4.3
2	20.5	0.71	3.5
3	33.4	1.48	4.4

8.4. RECOVERY

Three spiking solutions were prepared using the Sample Diluent, to represent the 600, 800 and 1,000 ng/ml, respectively. A 50 µl aliquot of each solution (A, B, C) was spiked into 950 µl aliquots of two different rat serum samples, for a spiking ratio of 1 to 20, leaving the serum matrix of the spiked samples relatively intact. All samples were then assayed by the Demeditec Prolactin rat ELISA procedure.

Demeditec Prolactin rat ELISA

Sample	Diluted Solution	measured Concentration	expected Concentration	Recovery
		[ng/ml]	[ng/ml]	[%]
1	-	26.1	-	-
	A	54.7	56.1	97
	B	66.6	66.1	100
	C	79.9	76.1	105
2	-	24.2	-	-
	A	52.6	54.2	103
	B	67.5	64.2	95
	C	81.1	74.2	91

8.5. LINEARITY

In dilution experiments sera with high rat prolactin concentrations were diluted with sample diluent and assayed in the Demeditec Prolactin rat ELISA kit. The assay showed linearity over the full measuring range.

Demeditec Prolactin rat ELISA

Sample	Dilution Factor	measured Concentration	expected Concentration	Recovery
		[ng/ml]	[ng/ml]	[%]
1	8 in 8	20.9	-	-
	4 in 8	10.6	10.5	101
	2 in 8	5.9	5.2	113
	1 in 8	3.0	2.6	115
2	8 in 8	34.7	-	-
	4 in 8	16.7	17.4	96
	2 in 8	9.0	8.7	103
	1 in 8	4.5	4.3	105

9. LIMITATIONS OF PROCEDURE

Effect of Anticoagulants

To determine whether anticoagulants interfere with the assay, blood was collected from 30 rats into plain and EDTA vacutainer tubes. All samples were assayed by the Demeditec Prolactin rat ELISA procedure, with the following results.

$$(\text{EDTA}) = 1.05 (\text{Serum}) - 9.3 \text{ ng/ml} \quad r = 0.978$$

Means: 3.68 ng/ml (Serum)
 3.78 ng/ml (EDTA)

A limited study with citrated and heparinized plasma show comparable results to EDTA plasma.

"High-Dose Hook"-Effect

Rat sera containing up to 300 ng/ml Prolactin were measured with the Demeditec Prolactin rat ELISA assay. A High-Dose Hook effect could not be observed.

10. REFERENCES

1. Leung, F. C., Russel, S. M.; Nicoll, C. S.
Relationship between bioassay and radioimmunoassay estimates of prolactin in rat serum.
Endocrinology 1978; 103: 1619 - 28.
2. Martinat, N., Hall, E., Ravault, J. P., Dubois, M. P.
Purification of rat prolactin: development of an homologous radioimmunological assay and comparison with the NIAMDD system.
Ann Biol Anim Bioch Biophys 1979; 19: 1771 - 48.
3. Beach, J. E., Miles, D. J., Lukes, Y. G., Vigersky, R. A.
Microplate solid-phase radioimmunoassay for rat prolactin.
J Lab Clin Med 1985; 105: 294 - 298.
4. Butcher, R. L., Collins, W. E., Fugo, N. W.
Plasma concentration of LH, FSH, prolactin, progesterone and estradiol-17 β throughout the 4-day estrous cycle of the rat.
Endocrinology 1974; 94: 1704 - 8.
5. Barbieri, R. L., Todd, R. B., Morishita, H., Ryan, K. J., Fishman, J, Naftolin, F.
Response of serum prolactin to catechol estrogen in the immature rat.
Fertil Steril 1980; 34: 391 - 3.
6. Wong, C. C.
Endogene und exogene Einflüsse auf die Variabilität der Hormonausschüttung bei der Ratte (Endogenous and exogenous influences on the variability of hormone release in the rat).
Thesis, Hannover (Germany): Univ. of Hannover, 1981.
7. Campbell, G. A., Kurcz, M., Marshall, S., Meites, J.
Effects of starvation in rats on serum levels of FSH, LH, TSH, growth hormone and prolactin: response to LH-releasing hormone and thyrotropin-releasing hormone.
Endocrinology 1977; 100: 580 - 7.
8. Haggi, E., Aoki, A.
Prolactin content in rat pituitary gland. RIA of prolactin after different extraction procedures.
Acta Endocrinol 1981; 97: 338 - 42.
9. Reichel, J.
Wirkungen gonadaler Steroide auf die adeno-hypophysären Thyreotropin-Releasing-Hormon-Rezeptoren, den Prolactinserumspiegel und die hormonelle Hypophysen-Schilddrüsen-Achse der Ratte (Effects of gonadal steroids on the pituitary TRH-receptors, the serum prolactin concentrations and the pituitary-thyroid axis in the rat)
Thesis.
Lübeck (Germany): University of Lübeck, 1990.
10. Moishige, W. K., Pepe, G. J., Rothschild, I.
Serum LH, prolactin and progesterone levels during pregnancy in the rat. Endocrinology 1973; 92: 1527 - 30.

11. SHORT INSTRUCTION(all sample sizes given in μl)

MP Well Steps	ng/ml Solution	0	1	2	3	4	5	Sample
		0	5	10	20	40	80	
Pipet	Calibrator	25	25	25	25	25	25	-
Pipet	Sample	-	-	-	-	-	-	25
Pipet	Rat Prolactin Sample Buffer	50	50	50	50	50	50	50
Incubate for 2 hours at RT on a shaker								
Decant Wash 4x with 300 μl of buffered wash solution								
Pipet	Enzyme-labeled Rat Prolactin Ab	200	200	200	200	200	200	200
Incubate for 1 hour at RT on a shaker								
Decant Wash 4x with 300 μl of buffered wash solution								
Pipet	Substrate Solution	200	200	200	200	200	200	200
Incubate for 30 min at RT in the dark								
Pipet	Stop Solution	50	50	50	50	50	50	50
Read at $\lambda = 450 \text{ nm}$								

1. EINLEITUNG

1.1. VERWENDUNG

Der Demeditec Prolactin rat ELISA ist ein Enzymimmunoassay zur quantitativen Bestimmung von Prolaktin in Rattenserum.

1.2. ZUSAMMENFASSUNG UND ERLÄUTERUNG

Ratten-Prolaktin (rPRL) ist ein einkettiges Polypeptidhormon und wird in den acidophilen Zellen des Hypophysenvorderlappens gebildet. Sein Molekulargewicht beträgt ca. 23.000. Prolaktine unterschiedlicher Spezies zeigen signifikante Variationen in der Aminosäuren-Sequenz. So stimmen Ratten- und humanes Prolaktin nur in 50 Prozent der Aminosäurenreste überein.

Die Synthese und die Ausschüttung des Prolaktins unterliegen der Steuerung des Hypothalamus. Wenn der funktionelle Kontakt zwischen Hypophyse und Hypothalamus unterbrochen ist, kommt es zu einer ungehemmten Sekretion von rPRL aus den laktotropen Zellen. Daraus kann gefolgert werden, dass vermutlich kein "Releasing"-Hormon für Prolaktin, sondern nur ein "Inhibiting"-Hormon vorhanden ist.

Dopamin wirkt auf die Prolaktinausschüttung hemmend. Ob es aber mit dem "PIF" (Prolaktin Inhibiting Factor) identisch ist, ist zweifelhaft. Als Stimulatoren sind Thyreotropin Releasing Hormon (TRH) und das vasoaktive intestinale Peptid (VIP), Östrogene und eine Vielzahl von Medikamenten, hauptsächlich Neuroleptica und Antidepressiva, bekannt.

Prolaktin ist physiologisch vor allem für die Einleitung und Erhaltung der Laktation nach einer Trächtigkeit verantwortlich. Während der Trächtigkeit steigt die Prolaktin-Serumkonzentration der Ratte an, wobei jedoch eine große individuelle Schwankungsbreite zu beobachten ist. Während der Laktationsphase bleiben die Prolaktinkonzentrationen auf hohem Niveau bestehen. Andere physiologische Wirkungen von Prolaktin sind unter anderem seine Wirkung auf die Keimdrüsenfunktion; in der Ratte hat Prolaktin einen luteotropen Effekt, der in vielen anderen Spezies nicht ausgeprägt ist. Daneben ist Prolaktin ein Stress-Hormon.

Die Prolaktinwerte der Ratte unterliegen, wie die des Menschen, tageszeitlichen Schwankungen. Zum späten Nachmittag hin steigt der Prolaktinspiegel an, während in den frühen Morgenstunden die niedrigsten Konzentrationen gemessen werden.

Aufgrund seines breiten Wirkungsspektrums ist Prolaktin eines der in der Ratte am häufigsten getesteten Hormone, um den Einfluss neuer Arzneimittel und Drogen auf das endokrine System des Organismus zu untersuchen.

2. TESTPRINZIP

Der vorliegende Test ist ein Enzymimmunoassay (ELISA) im Mikrotiterplatten-Format mit einer Flüssigphasen-Inkubation zur quantitativen Bestimmung von Ratten-Prolaktin im Serum. Die Festphase ist mit monoklonalen Antikörpern gegen Ratten-Prolaktin beschichtet (1. Antikörper).

Standards und Patientenproben werden in die mit Antikörpern beschichtete Mikrotiterplatte pipettiert und reagieren dann mit dem ersten Antikörper. Nach Abschluss der Reaktion werden überschüssige Bestandteile der Proben und Standards durch Waschen entfernt.

Nach Zugabe von enzymmarkierten polyklonalen Antikörpern gegen Ratten-Prolaktin kann sich in einer anschließenden Inkubation ein Sandwich-Komplex aus dem 1. Antikörper, Ratten-Prolaktin und dem Enzym-markierten Antikörper bilden. Danach wird überschüssiger Enzym-markierter Antikörper durch Waschen entfernt.

Zugegebenes Substrat, 3,3',5,5'-Tetra-Methyl-Benzidin (TMB), wird anschließend vom gebundenen Enzym zu einem farbigen Endprodukt (blau) umgesetzt. Die Enzymreaktion wird nach 30 Minuten durch Zugabe von Salzsäure beendet (Farbumschlag blau → gelb).

Die bei einer Wellenlänge von 450 nm gemessene optische Dichte der Lösung ist der Konzentration des Ratten-Prolaktin in den Standards oder den Proben direkt proportional. Bi-chromatische Messung mit einer Referenzfilter-Wellenlänge im Bereich von 600 - 690 nm ist empfehlenswert.

3. HINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN

Alle Reagenzien dieser Testpackung dürfen ausschließlich zur Veterinär-Forschung verwendet werden. Die Anwendung sollte durch Personal erfolgen, das speziell in Immunoassay-Verfahren unterrichtet und ausgebildet wurde.

Die Einhaltung des vorgeschriebenen Protokolls zur Durchführung des Tests ist unbedingt erforderlich.

Die Lagerung der Kitreagenzien sollte gekühlt bei 2 - 8°C in den Originalflaschen erfolgen. Einzelne Komponenten verschiedener Chargen und Testbestecke sollten nicht ausgetauscht werden. Die auf der Verpackung und den Etiketten der einzelnen Komponenten angegebenen Verfallsdaten sind zu beachten. Verfallene Kitbestandteile nicht benutzen.

Alle Testkomponenten vor Testbeginn auf Raumtemperatur (18 - 28 °C) bringen und gut durchmischen.

Für den Umgang mit Kitreagenzien, Kontroll- und Patientenproben sind die Vorschriften zur Unfallverhütung für den Gesundheitsdienst beim Umgang mit potentiell infektiösem Material einzuhalten. Insbesondere sind folgende Vorsichtsmaßnahmen zu beachten:

- nicht essen, trinken oder rauchen
- nicht mit dem Mund pipettieren, Sicherheitspipetten verwenden
- Handschuhe tragen und Kontakt mit Reagenzien, Kontrollproben und Untersuchungsmaterial vermeiden

In diesem Testbesteck enthaltene Reagenzien veterinären Ursprungs erwiesen sich bei der Prüfung auf Hepatitis B Oberflächen-Antigen und HIV (Human Immuno-deficiency Virus) als negativ. Dennoch ist bei Produkten menschlichen oder tierischen Ursprungs nie mit letzter Sicherheit auszuschließen, dass die genannten, andere oder ggf. noch nicht bekannte oder diagnostizierbare Krankheitserreger enthalten sind.

Untersuchungsmaterial von Ratten (z.B. Plasma- oder Serumproben), wie es für Laboratoriumsuntersuchungen eingesetzt wird, ist stets als potentiell infektiös einzustufen. Unter den gleichen Sicherheitsvorkehrungen sind ebenso Kitreagenzien und Kontrollproben zu handhaben. Proben von Risikopatienten sollten stets besonders gekennzeichnet werden und ggf. in Sicherheitswerkbänken (z. B. Laminar Flow-Arbeitsplatz) bearbeitet werden.

Die Reagenzien dieses Testbestecks enthalten zum Schutz gegen mikrobielles Wachstum Konservierungsmittel; daher ist die Berührung mit der Haut und /oder Schleimhäuten zu vermeiden.

Ein Kontakt mit der Peroxid enthaltenden TMB (3,3',5,5'-Tetra-Methyl-Benzidin) Substratlösung ist zu vermeiden. Bei Hautkontakt unverzüglich und kräftig mit Wasser abwaschen. Vermeiden Sie den Kontakt mit leicht oxidierbaren Materialien. Extreme Temperaturschwankungen können zum spontanen Zerfall des Peroxids führen.

Ein Kontakt mit der säurehaltigen Stopp-Lösung ist zu vermeiden. Bei Hautkontakt unverzüglich und kräftig mit Wasser abwaschen. Alle Geräte, die zur Verteilung der Stopp-Lösung verwendet wurden, sofort nach Gebrauch gründlich reinigen.

4. KITBESTANDTEILE

4.1. MITGELIEFERTE KOMPONENTEN

1. **Teilbare Mikrotiterplatte**, 12 x 8 (teilbar) Streifen mit 96 Vertiefungen, gebrauchsfertig beschichtet mit monoklonalem anti-Ratten-Prolaktin-Antikörper
2. **Ratten-Prolaktin Standard**, 1 Fl., 80 ng, lyophilisiert
Enthält hoch-aufgereinigtes Ratten-Prolaktin in Serum/Puffer-Matrix
siehe „Vorbereitung der Reagenzien“
3. **Standard/Probenverdünnungspuffer**, 1 Fl., 6 ml, gebrauchsfertig
Ratten-Prolaktin frei
4. **Enzym-markierter Ratten-Prolaktin Antikörper**, 1 Fl., 22 ml, rot, gebrauchsfertig
Enthält polyklonale Antikörper, markiert mit Meerrettichperoxidase, in gepufferter Lösung mit Konservierungsmittel
5. **Ratten-Prolaktin Probenpuffer**, 1 Fl., 6 ml, gelb, gebrauchsfertig
6. **TMB-Substrat-Lösung**, 1 Fl., 22 ml, gebrauchsfertig
3,3',5,5'-Tetra-Methyl-Benzidin in gepufferter Peroxid-Lösung
7. **Stopp-Lösung**, 1 Fl., 7 ml, gebrauchsfertig
Enthält 2 M Salzsäure
8. **Waschlösung**, 1 Fl., 50 ml, 10x konzentriert
siehe „Vorbereitung der Reagenzien“

4.2. VORBEREITUNG DER REAGENZIEN

Standards:

Den lyophilisierten Ratten-Prolaktin Standard mit 1 ml dest. Wasser 30 min. vor Gebrauch auflösen (Endkonzentration: 80 ng/ml); Verdünnungsreihe ansetzen, um Standards mit 80, 40, 20, 10 und 5 ng/ml zu erhalten.

Waschlösung:

Mit 450 ml dest. Wasser auf 500 ml auffüllen.

4.3. LAGERUNG DER KOMPONENTEN

Bei einer Lagerung bei 2 °C bis 8 °C sind alle Komponenten bis zum angegebenen Verfallsdatum oder 30 Tage nach dem Öffnen haltbar.

Die Stopp-Lösung ist bis zu 2 Monate nach dem Öffnen oder bis zum Verfallsdatum haltbar.

Die Waschlösung ist bis zu 3 Monate nach der Verdünnung oder bis zum Verfallsdatum haltbar.

Lagern Sie die Standards tiefgefroren, nach dem Auflösen sind diese bei 2 °C bis 8 °C bis zu 7 Tage haltbar; für längere Aufbewahrung aliquotieren und bei -20 °C aufbewahren.

Schützen Sie die Mikrotiterplatte vor Feuchtigkeit. Zusammen mit dem Trocknungsmittel in dem verschließbaren Beutel aufbewahren.

Schützen Sie die TMB-Substrat-Lösung vor Licht.

4.4. ERFORDERLICHE HILFSMITTEL

- Mikrotiter-Platten-Photometer mit optischem Filter für 450 nm, optional mit Referenzwellenlänge von 600 - 690 nm
- Wirbelmischer (Vortex)
- Mikrotiterplatten-Schüttler (>900 Upm)
- destilliertes Wasser
- Messzylinder für 500 ml
- Plastikgefäße zur Aufbewahrung des Waschpuffers
- variable Mikropipette für bis zu 1.000 µl
- Dispenser bzw. Mehrkanalpipette für 25 µl, 50 µl, und 200 µl

5. PROBENENTNAHME UND –VORBEREITUNG

Die Bestimmung des Ratten-Prolaktin wird im Serum durchgeführt. Es wird 25 µl pro Einzelbestimmung benötigt. Da die Prolaktinausschüttung bei Ratten stark stressabhängig ist, sollte die Blutentnahme so stressfrei wie möglich durchgeführt werden.

Die Proben können für eine Woche gekühlt bei 2 – 8 °C oder bis zu 2 Monaten gefroren bei -20 °C gelagert werden. Ist eine längere Lagerung beabsichtigt, sollten die Proben aliquotiert und tiefgefroren werden. Wiederholtes Einfrieren und Auftauen sollte vermieden werden.

Proben, deren Konzentration an Ratten-Prolaktin höher als der höchste Standardwert (80 ng/ml) liegen könnte, sollten vor der Abarbeitung im Ratten-Prolaktin Probenverdünnungspuffer vorverdünnt werden. Die zusätzliche Verdünnungsstufe ist bei der Auswertung der Ergebnisse zu berücksichtigen.

6. TESTDURCHFÜHRUNG

6.1. ALLGEMEINE ANMERKUNGEN

- Die Komponenten aus Testbestecken verschiedener Chargen nicht austauschen.
- Alle Komponenten auf Raumtemperatur (18 – 28 °C) bringen.
- Die als Konzentrat gelieferten Reagenzien müssen mindestens 30 Minuten vor Gebrauch auf ihre Endkonzentration verdünnt werden. Gut mischen, aber Schaumbildung vermeiden.
- Zum Vorlegen der Serumproben sollten Pipetten mit Einmalspitzen verwendet werden. Direkt auf den Boden der Vertiefungen pipettieren. Für jede Probe die Spitzen wechseln, um Verschleppungen zu vermeiden.
- Zur internen Qualitätskontrolle empfehlen wir die Verwendung des **Ratten-Kontroll-Sets mit der Kat.-Nr. DEV99RC**. Für weitere Informationen kontaktieren Sie **DEMEDIATEC**.

6.2. TESTDURCHFÜHRUNG

1. Vorbereitung der Standards

Vier Röhrchen beschriften: E (40 ng/ml), D (20 ng/ml), C (10 ng/ml) und B (5 ng/ml). **0,1 ml** des Standard-/Probenverdünnungspuffers in alle Röhrchen pipettieren. 0,1 ml des rekonstituierten Ratten-Prolaktin Standards in Röhrchen E (40 ng/ml) pipettieren und sorgfältig mischen. 0,1 ml aus dem Röhrchen E (40 ng/ml) in Röhrchen D (20 ng/ml) überführen und sorgfältig mischen. Die Serienverdünnung entsprechend fortsetzen. Der rekonstituierte Ratten-Prolaktin Standard dient als höchster Standard (80 ng/ml), der Standard-/Probenpuffer dient als Null-Standard A (0 ng/ml). Die Mikrotiterplatte entsprechend den Proben vorbereiten.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
a	A	E	P3	P..								
b	A	E	P3	P..								
c	B	F	P4									
d	B	F	P4									
e	C	P1	P5									
f	C	P1	P5									
g	D	P2	P6									
h	D	P2	P6									

- Zur Bestimmung von Ratten-Prolaktin jeweils **25 µl** Standards, Kontrollen und Proben entsprechend der Plattenbelegung auf den Boden der Vertiefungen pipettieren.
- 50 µl Ratten-Prolaktin Puffer** in jede Vertiefung pipettieren.
- Platte **2 Stunden** bei Raumtemperatur (18 – 28 °C) inkubieren. Der Schüttler sollte auf >900 U/min eingestellt sein.
- Platte dekantieren und **4-mal** jeweils mit **300 µl Waschpuffer** waschen. Restliche Flüssigkeit sorgfältig durch Ausklopfen der Platte entfernen.
- 200 µl Enzym-markierter Ratten-Prolaktin Antikörper** in jede Vertiefung pipettieren.
- Platte **1 Stunde** bei Raumtemperatur (18 – 28 °C) auf dem Schüttler inkubieren.
- Platte dekantieren und **4-mal** jeweils mit **300 µl Waschpuffer** waschen. Restliche Flüssigkeit sorgfältig durch Ausklopfen der Platte entfernen.
- 200 µl TMB-Substrat-Lösung** in jede Vertiefung pipettieren.
- 30 Minuten** bei Raumtemperatur (18 – 28 °C) im Dunkeln inkubieren.
- 50 µl Stopp-Lösung** in jede Vertiefung pipettieren.
- Optische Dichte bei **450 nm** messen. Bi-chromatische Messung mit einer Referenzfilterwellenlänge im Bereich von 600 - 690 nm ist empfehlenswert.

Die Färbung der Lösung ist mindestens 15 Minuten stabil. In dieser Zeit sollte gemessen werden.

6.3. AUSWERTUNG DER ERGEBNISSE

Zur Auswertung des Demeditec Prolactin rat ELISA ist eine 4-Parameter Logistik mit lin-log-Koordinaten für die optischen Dichte (lineare Achse) und für die Konzentration (logarithmische Achse) die Kurvenanpassung der Wahl.

Eine geglättete Spline-Funktion mit lin-log- oder log-log-Koordinaten ist ebenso möglich.

6.3.1. AUSWERTUNGSBEISPIEL

Die folgende Tabelle zeigt typische Messwerte am Beispiel des Demeditec Prolactin rat ELISA Tests. Die Daten dienen nur der Illustration und sind nicht dazu bestimmt, die Ergebnisse eines anderen Testansatzes danach zu berechnen.

	Replikat (OD)	Mittelwert (OD)	Bindung (%)	Prolactin (ng/mL)
Standards				
A	0,079	0,073	-	0
	----- 0,067			
B	0,189	0,179	6,9	5
	----- 0,169			
C	0,328	0,342	12,7	10
	----- 0,357			
D	0,766	0,796	29,7	20
	----- 0,827			
E	1,591	1,635	61,0	40
	----- 1,679			
F	2,588	2,677	100	80
	----- 2,765			
Unbekannte Proben				
X 001	0,318	0,324	12,1	9,8
	----- 0,329			
X 002	0,577	0,590	22,0	16,4
	----- 0,603			
X 003	1,733	1,716	64,1	47,3
	----- 1,698			

7. NORMALWERTE

Im Rahmen einer Studie wurden mit dem Demeditec Prolactin rat ELISA die folgenden Werte in Serumproben, die zwischen 8 und 9 Uhr morgens bzw. 5 und 6 Uhr abends entnommen wurden, bestimmt:

Gruppe	Wertebereich (ng/ml)	n
Normale weibliche Ratten	nn - 17,9	15
Normale männliche Ratten	nn - 23,4	10
nn = nicht nachweisbar		

Da Faktoren wie Population, Labortechnik und Auswahl der Referenzgruppen diese Werte beeinflussen können, wird empfohlen, dass jeder Anwender seinen eigenen Normalbereich bezüglich seines Patientenkollektivs festlegt. Die angegebenen Normalwerte dienen zur Orientierung.

8. TESTCHARAKTERISTIKA

8.1. SENSITIVITÄT

Die untere Nachweisgrenze des Demeditec Prolactin rat ELISA wurde bei 0,6 ng/ml ermittelt.

8.2. SPEZIFITÄT

Die in diesem Testbesteck verwendeten Antikörper sind hochspezifisch für Ratten-Prolaktin mit extrem niedriger Kreuzreaktivität zu anderen eventuell im Serum vorliegenden Hormonen.

Folgende Substanzen wurden in einem weit oberhalb der normalerweise vorliegenden physiologischen Konzentrationsbereiche getestet:

	zugesezte Menge (ng/ml)	gemessene Kon- zentration (ng/ml)	Kreuz- reaktivität (%)
Ratten-TSH	5.000	1,5	0,03
Ratten-FSH	10.000	5,1	0,05
Ratten-LH	5.000	nn	-
Ratten-GH	4.000	nn	-

Um die Kreuzreaktivität der verwendeten Antikörper gegenüber Plazenta Laktogen (rPL) zu überprüfen, wurde Serum einer Ratte am 18. Tag der Trächtigkeit gewonnen und als Probe eingesetzt. Es wurde eine Konzentration von 1,5 ng/ml ermittelt. Da die Serumkonzentration von plazentalem Laktogen ab dem 15. Tag der Tragezeit über 50 ng/ml ansteigt, kann gefolgert werden, dass die im Testkit verwendeten Antikörper nicht oder nur minimal mit plazentalem Laktogen kreuzreagieren.

8.3. REPRODUZIERBARKEIT

Nachfolgende Variationskoeffizienten (VK) wurden für die Intra-Assay-Varianz auf der Basis einer 20 fachen Bestimmung von drei Proben ermittelt; für die Inter-Assay-Varianz wurden die Ergebnisse aus 14 Assays für drei Proben ermittelt.

Intra - Assay			
Proben Nr.	Mittelwert \bar{x} (ng/ml)	Standard-Abweichung $\pm s$ (ng/ml)	CK (%)
1	6,6	0,20	3,0
2	19,6	0,77	3,9
3	33,0	1,80	5,5

Inter - Assay			
Proben Nr.	Mittelwert \bar{x} (ng/ml)	Standard-Abweichung $\pm s$ (ng/ml)	CK (%)
1	6,5	0,28	4,3
2	20,5	0,71	3,5
3	33,4	1,48	4,4

8.4. WIEDERFINDUNG

Dem Standard-/Proben-Verdünnungspuffer wurden drei unterschiedliche Mengen an Ratten Prolaktin zugegeben (600, 800 und 1000 ng/ml). 50 µl jeder Lösung wurden zu je 950 µl zweier verschiedener Serumproben von Ratten hinzugefügt (Verdünnungsverhältnis von 1:20), um die Serum-Matrix der Proben möglichst intakt zu lassen. Alle Proben wurden dann mit dem Demeditec Prolactin rat ELISA Test gemessen.

Demeditec Prolactin rat ELISA

Proben	Lösung	Gemessene Konzentration	Erwartete Konzentration	Wiederfindung
		[ng/ml]	[ng/ml]	[%]
1	-	26,1	-	-
	A	54,7	56,1	97
	B	66,6	66,1	100
	C	79,9	76,1	105
2	-	24,2	-	-
	A	52,6	54,2	103
	B	67,5	64,2	95
	C	81,1	74,2	91

8.5. LINEARITÄT

Serumproben von vier Ratten wurden unverdünnt und verdünnt mit Standard-/Proben-Verdünnungspuffer getestet. Der Assay ist über den gesamten Messbereich linear.

Demeditec Prolactin rat ELISA

Sample	Verdünnung	Gemessene Konzentration	erwartete Konzentration	Wiederfindung
		[ng/ml]	[ng/ml]	[%]
1	8 in 8	20,9	-	-
	4 in 8	10,6	10,5	101
	2 in 8	5,9	5,2	113
	1 in 8	3,0	2,6	115
2	8 in 8	34,7	-	-
	4 in 8	16,7	17,4	96
	2 in 8	9,0	8,7	103
	1 in 8	4,5	4,3	105

9. LIMITATIONEN

"High-Dose Hook"-Effekt

Rattenserum mit Konzentrationen bis zu 300 ng/ml Prolaktin wurden im Demeditec Prolactin rat ELISA ohne Hinweis auf einen bestehenden Hook-Effekt getestet.

Trotzdem ist zu berücksichtigen, dass bei allen immunometrischen Assays Proben mit extrem hohem Antigengehalt zu Ergebnissen innerhalb des Messbereichs der Methode führen können.

Effekte von Antikoagulantien

Um zu bestimmen, ob Antikoagulantien den Assay stören, wurden Blutproben von 30 Ratten in klare bzw. EDTA Vacutainer Röhrchen gefüllt. Alle Proben wurden mit dem Demeditec Prolactin rat ELISA gemessen und folgende Ergebnisse ermittelt:

$$(\text{EDTA}) = 1,05 (\text{Serum}) - 9,3 \text{ U/ml} \quad r = 0,978$$

Mittelwert: 3,68 ng/ml (Serum)
3,78 ng/ml (EDTA)

Eine kleinere Studie mit Citrat- und Heparin-Plasma zeigte vergleichbare Werte wie EDTA-Plasma.

10. LITERATUR











1. Leung, F. C., Russel, S. M.; Nicoll, C. S.
Relationship between bioassay and radioimmunoassay estimates of prolactin in rat serum.
Endocrinology 1978; 103: 1619 - 28.
2. Martinat, N., Hall, E., Ravault, J. P., Dubois, M. P.
Purification of rat prolactin: development of an homologous radioimmunological assay and comparison with the NIAMDD system.
Ann Biol Anim Bioch Biophys 1979; 19: 1771 - 48.
3. Beach, J. E., Miles, D. J., Lukes, Y. G., Vigersky, R. A.
Microplate solid-phase radioimmunoassay for rat prolactin.
J Lab Clin Med 1985; 105: 294 - 298.
4. Butcher, R. L., Collins, W. E., Fugo, N. W.
Plasma concentration of LH, FSH, prolactin, progesterone and estradiol-17 β throughout the 4-day estrous cycle of the rat.
Endocrinology 1974; 94: 1704 - 8.
5. Barbieri, R. L., Todd, R. B., Morishita, H., Ryan, K. J., Fishman, J, Naftolin, F.
Response of serum prolactin to catechol estrogen in the immature rat.
Fertil Steril 1980; 34: 391 - 3.
6. Wong, C. C.
Endogene und exogene Einflüsse auf die Variabilität der Hormonausschüttung bei der Ratte (Endogenous and exogenous influences on the variability of hormone release in the rat).
Thesis, Hannover (Germany): Univ. of Hannover, 1981.
7. Campbell, G. A., Kurcz, M., Marshall, S., Meites, J.
Effects of starvation in rats on serum levels of FSH, LH, TSH, growth hormone and prolactin: response to LH-releasing hormone and thyrotropin-releasing hormone.
Endocrinology 1977; 100: 580 - 7.
8. Haggi, E., Aoki, A.
Prolactin content in rat pituitary gland. RIA of prolactin after different extraction procedures.
Acta Endocrinol 1981; 97: 338 - 42.
9. Reichel, J.
Wirkungen gonadaler Steroide auf die adeno-hypophysären Thyreotropin-Releasing-Hormon-Rezeptoren, den Prolactinserumspiegel und die hormonelle Hypophysen-Schilddrüsen-Achse der Ratte (Effects of gonadal steroids on the pituitary TRH-receptors, the serum prolactin concentrations and the pituitary-thyroid axis in the rat)
Thesis.
Lübeck (Germany): University of Lübeck, 1990.
10. Moishige, W. K., Pepe, G. J., Rothschild, I.
Serum LH, prolactin and progesterone levels during pregnancy in the rat.
Endocrinology 1973; 92: 1527 - 30.

11. KURZANLEITUNG







(alle Volumenangaben in µl)

MT-Platten-Well	ng/ml	0	1	2	3	4	5	Probe
		0	5	10	20	40	80	
Schritte	Lösung							
Pipettieren	Standard	25	25	25	25	25	25	-
Pipettieren	Probe	-	-	-	-	-	-	25
Pipettieren	Ratten-Prolaktin Probenpuffer	50	50	50	50	50	50	50
2 Stunden bei RT auf einem Schüttler inkubieren								
Dekantieren 4x mit 300 µl Waschlösung waschen								
Pipettieren	Enzym-markierter Ratten-Prolaktin Antikörper	200	200	200	200	200	200	200
1 Stunde bei RT auf einem Schüttler inkubieren								
Dekantieren 4x mit 300 µl Waschlösung waschen								
Pipettieren	Substrat-Lösung	200	200	200	200	200	200	200
30 min bei RT im Dunkeln inkubieren								
Pipettieren	Stopp-Lösung	50	50	50	50	50	50	50
Messen bei $\lambda = 450 \text{ nm}$								

SYMBOLS USED WITH DEMEDITEC ELISAS

Symbol	English	Deutsch	Français	Espanol	Italiano
	European Conformity	CE-Konformitätskennzeichnung	Conforme aux normes européennes	Conformidad europea	Conformità europea
	Consult instructions for use	Gebrauchsanweisung beachten	Consultez le Mode d'emploi	Consulte las Instrucciones	Consulti le istruzioni
	In vitro diagnostic device	In-vitro-Diagnostikum	Diagnostic in vitro	Diagnóstico in vitro	Diagnostica in vitro
	Catalogue number	Katalog-Nr.	Référence	No de catálogo	No. di Cat.
	Lot. No. / Batch code	Chargen-Nr.	No. de lot	Número de lote	Lotto no
	For research use only	Nur für Forschungszwecke			
	Contains sufficient for <n> tests/	Ausreichend für "n" Ansätze	Contenu suffisant pour "n" tests	Contenido suficiente para <n> ensayos	Contenuto sufficiente per "n" saggi
	Storage Temperature	Lagerungstemperatur	Temperature de conservation	Temperatura de conservacion	Temperatura di conservazione
	Expiration Date	Mindesthaltbarkeitsdatum	Date limite d'utilisation	Fecha de caducidad	Data di scadenza
	Legal Manufacturer	Hersteller	Fabricant	Fabricante	Fabbricante
<i>Distributed by</i>	Distributor	Vertreiber	Distributeur	Distribuidor	Distributore
<i>Content</i>	Content	Inhalt	Contenu	Contenido	Contenuto
<i>Volume/No.</i>	Volume / No.	Volumen/Anzahl	Volume/Numéro	Volumen/Número	Volume/Quantità
<i>Microtiterwells</i>	Microtiterwells	Mikrotiterwells	Plaques de microtitration	Pocillos de la Microplaca	Micropozzetti
<i>Antiserum</i>	Antiserum	Antiserum	Antisérum	Antisuero	Antisiero
<i>Enzyme Conjugate</i>	Enzyme Conjugate	Enzymkonjugat	Conjugué enzymatique	Conjugado enzimático	Tracciante enzimatico
<i>Enzyme Complex</i>	Enzyme Complex	Enzymkomplex	Complexe enzymatique	Complex enzimático	Complesso enzimatico
<i>Substrate Solution</i>	Substrate Solution	Substratlösung	Solution substrat	Solución de sustrato	Soluzione di substrato
<i>Stop Solution</i>	Stop Solution	Stopplösung	Solution d'arrêt	Solución de paro	Soluzione d'arresto
<i>Zero Standard</i>	Zero Standard	Nullstandard	Standard 0	Standard 0	Standard zero
<i>Standard</i>	Standard	Standard	Standard	Calibrador	Standard
<i>Control</i>	Control	Kontrolle	Contrôle	Control	Controllo
<i>Assay Buffer</i>	Assay Buffer	Assaypuffer	Tampon d'essai	Tampón de ensayo	Tampone del test
<i>Wash Solution</i>	Wash Solution	Waschlösung	Solution de lavage	Solución de lavado	Soluzione di lavaggio
<i>1N NaOH</i>	1N NaOH	1N NaOH	1N NaOH	1N NaOH	1N NaOH (idrossido di sodio 1N)
<i>1 N HCl</i>	1 N HCl	1 N HCl	1N HCl	1 N HCl	
<i>Sample Diluent</i>	Sample Diluent	Probenverdünnungsmedium	Solution pour dilution de l'échantillon		Diluyente dei campioni
<i>Conjugate Diluent</i>	Conjugate Diluent	Konjugatverdünnungsmedium	Solution pour dilution du conjugué		Diluyente del tracciante

Demeditec Prolactin rat ELISA DEV9966

Symbol	Portugues	Dansk	Svenska	Ελληνικά
	Conformidade com as normas europeias	Europaeisk overensstemmelse	Europeisk överensstämmelse	Ευρωπαϊκή Συμμόρφωση
	Instruções de uso	Brugermanual	Användar manual	Εγχειρίδιο χρήστη
IVD	Diagnóstico in vitro	In vitro diagnostik	Diagnostik in vitro	in vitro διαγνωστικό
REF	Catálogo n.º	Katalognummer	Katalog nummer	Αριθμός καταλόγου
LOT	No do lote	Lot nummer	Batch-nummer	Αριθμός Παρτίδος
RUO				
		Indeholder tilstrækkeligt til "n" test	Innehåller tillräckligt till "n" tester	Περιεχόμενο επαρκές για «n» εξετάσεις
	Temperatura de conservação	Opbevaringstemperatur	Förvaringstemperatur	Θερμοκρασία αποθήκευσης
	Prazo de validade	Udløbsdato	Bäst före datum	Ημερομηνία λήξης
	Fabricante	Producent	Tillverkare	Κατασκευαστής
<i>Distributed by</i>				
<i>Content</i>	Conteúdo	Indhold	Innehåll	Περιεχόμενο
<i>Volume/No.</i>	Volume/Número	Volumen/antal	Volym/antal	Όγκος/αριθ..
<i>Microtiterwells</i>	Alvéolos de microtitulação	Mikrotiterbrønde	Brunnar i Mikrotiterplatta	Πηγαδάκια Μικροπιλοδοτήσεως
<i>Antiserum</i>	Anti-soro	Antiserum	Antiserum	Αντιορός
<i>Enzyme Conjugate</i>	Conjugado enzimático	Enzymkonjugat	Enzymkonjugat	Συζευγμένο ενζυμο
<i>Enzyme Complex</i>	Complexo enzimático	Enzymkompleks	Enzymkomplex	Σύμπλοκο ενζύμου
<i>Substrate Solution</i>	Solução de substrato	Substratopløsning	Substratlösning	Διάλυμα υποστρώματος
<i>Stop Solution</i>	Solução de paragem	Stopopløsning	Stopp lösning	Διάλυμα τερματισμού
<i>Zero Standard</i>	Padrão zero	Standard 0	Standard 0	Πρότυπο Μηδέν
<i>Standard</i>	Calibrador	Standard	Standard	Πρότυπα
<i>Control</i>	Controlo	Kontrol	Kontroll	Έλεγχος
<i>Assay Buffer</i>	Tampão de teste	Assay buffer	Assay Buffer	Ρυθμιστικό Διάλυμα Εξέτασης
<i>Wash Solution</i>	Solução de lavagem	Vaskebuffer	Tvätt lösning	Διάλυμα πλύσεως
<i>1N NaOH</i>	1N NaOH	1N NaOH	1N NaOH	1N NaOH
<i>1 N HCl</i>	1 N HCl	1 N HCl	1 N HCl	1 N HCl
<i>Sample Diluent</i>				
<i>Conjugate Diluent</i>				