

Quantitative determination of Haptoglobin (HAPTO) IVD

Store 2 - 8°C.

PRINCIPLE OF THE METHOD

Anti-haptoglobin antibodies when mixed with samples containing haptoglobin, form insoluble complexes. These complexes cause an absorbance change, dependent upon the haptoglobin concentration of the patient sample, that can be quantified by comparison from a calibrator of known haptoglobin concentration.

CLINICAL SIGNIFICANCE

The haptoglobin is an α_2 -glycoprotein synthesized in the liver that binds hemoglobin irreversibly. The hapto-hemoglobin complexes, as well as free haptoglobin itself, play significant roles in the iron storage and prevents of possible renal damage as a consequence of hemoglobin excretion. As an acute-phase protein, haptoglobin is increased in the presence of acute inflammatory process, tissue necrosis or malignancy.

Haptoglobin deficiency in plasma is a consequence of hemolysis "in vivo", presence of estrogens in pregnancy and oral contraceptive therapy, as well as most forms of acute or chronic hepatocellular disease, including viral hepatitis.

Haptoglobin test is mainly used for the determination and monitoring the hemolytic disorders. Under normal circumstances, approximately 1% of circulating red blood cells are destroyed from circulation. An increase of only 2% destruction per day will completely deplete plasma haptoglobin in the absence of a stimulus to production, such as acute inflammation or corticosteroids therapy.

REAGENTS

Diluent (R1)	Tris buffer 20 mmol/L, PEG 8000, pH 8.3. Preservative.
Antiserum (R2)	Goat serum, anti-human haptoglobin pH 7.5. Preservative.
Optional	Ref: 1102003 PROT CAL.

CALIBRATION

The assay has been standardized against the Reference Material ERM-DA470k/IFCC. It must be used the PROT CAL Calibrator to calibrate the reagent.

PREPARATION

Reagents: Ready to use.

Calibration Curve: Prepare the following PROT CAL Calibrator dilutions in NaCl 9 g/L as diluent. Multiply the concentration of the haptoglobin calibrator by the corresponding factor stated in table below to obtain the haptoglobin concentration of each dilution.

Calibrator dilution	1	2	3	4	5	6
Calibrator (μ L)	--	10	25	50	75	100
NaCl 9 g/L (μ L)	100	90	75	50	25	-
Factor	0	0.1	0.25	0.5	0.75	1.0

STORAGE AND STABILITY

All the components of the kit are stable until the expiration date on the label when stored tightly closed at 2-8°C and contaminations are prevented during their use. Do not use reagents over the expiration date.

Reagent deterioration: The presence of particles and turbidity.

Do not freeze; frozen Antibody or Diluent could change the functionality of the test.

ADDITIONAL EQUIPMENT

- Spintech 240 autoanalyzer
- Laboratory equipment.

SAMPLES

Fresh serum or plasma. EDTA or heparin should be used as anticoagulant. Stable 7 days at 2-8°C or 3 months at -20°C.

The samples with presence of fibrin should be centrifuged before testing.

Do not use highly hemolyzed or lipemic samples.

REFERENCE VALUES?

Between 30 - 200 mg/dL. Each laboratory should establish its own reference range

QUALITY CONTROL

Control sera are recommended to monitor the performance of manual and automated assay procedures. Spinreact PROT CONTROL (Ref.:1102004) is available. Each laboratory should establish its own Quality Control scheme and corrective actions if controls do not meet the acceptable tolerances.

NOTES

1. Linearity depends on the calibrator concentration.
2. Clinical diagnosis should not be made on findings of a single test result, but should integrate both clinical and laboratory data.

SPINTECH 240 / 300 APPLICATION

Item Name HAPTO		CALIBRATION	
DATA INFORMATION		TYPE	Spline
Units	mg/dL		
Decimals	1		
ANALYSIS		STANDARD	
Type	END	#1 0.10 x Cal.Val.	#4 0.75 x Cal.Val.
W.Length 1	340	#2 0.25 x Cal.Val.	#5 1.00 x Cal.Val.
		#3 0.50 x Cal.Val.	#6
Method		NORMAL RANGE	
	Turbidimetry	LOW	HIGH
SLOPE		SERUM MALE	
1.000 x +	INTER	FEMALE	
	0	URINE	
Item Name HAPTO		DATA PROCESS	
ASPIRATION		ABSORBANCE LIMIT	
KIND	Single <input checked="" type="checkbox"/> Double	READ	LOW -3.000
		START END	HIGH 3.000
	VOLUME**	MAIN 40 41	
SAMPLE	3 μ L	SUB 28 29	
REAGENT 1	240 μ L		ENDPOINT LIMIT 3
REAGENT 2	60 μ L		LINEAR CHECK (%)
Third Mix <input checked="" type="checkbox"/> OFF <input type="checkbox"/> ON		FACTOR	
R1 Blank	Water <input checked="" type="checkbox"/> R1-B	Blank Correction	1.000
MONITOR		PROZONE CHECK	
0 LEVEL POINT	1	START END LIMIT (%)	
SPAN	3.000	FIRST	
		SECOND	<input checked="" type="checkbox"/> Low High
		THIRD	<input checked="" type="checkbox"/> Low High

** Modify reagents and sample volumes according to the range accepted but keeping always the mentioned ratio.

Blank parameter must be performed in order to get good results in CALIB screen from main menu. This parameter calibration is stable for 30 days.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

1. **Measurement range:** Up to 300 mg/dL under the described assay conditions. Samples with higher concentrations, should be diluted 1/5 in NaCl 9 g/L and retested again. The linearity limit depends on the sample / reagent ratio. It will be higher by decreasing the sample volume, although the sensitivity of the test will be proportionally decreased.
2. **Detection Limit:** Values less than 1,3 mg/dL give non-reproducible results.
3. **Prozone effect:** No prozone effect was detected upon 1200 mg/dL
4. **Sensitivity:** Δ 4,96 mA / mg/dL (100 mg/dL).
5. **Precision:** The reagent has been tested for 20 days, using three levels of serum in a EP5-based study.

EP5	CV (%)		
	39,25 mg/dL	97,35 mg/dL	191,5 mg/dL
Total	8%	3,2%	2,3%
Within Run	1,5%	0,9%	1,2%
Between Run	6,7%	2,3%	1,2%
Between Day	4%	2%	1,5%

6. **Accuracy:** Results obtained using this reagent (y) were compared to those obtained using the method from Beckman (System Array 360 CE). 35 samples ranging from 10 to 400 mg/dL of Haptoglobin were assayed. The correlation coefficient (r) was 0,95 and the regression equation $y = 0,88x + 4,8$. The results of the performance characteristics depend on the used analyzer.

BIBLIOGRAPHY

1. Clinical Guide to Laboratory Tests, Edited by NW Tietz W B Saunders Co., Philadelphia, 483, 1983.
2. Dati F et al. Eur J Clin Chem Clin Biochem 1996; 34:517-520.
3. Pesce AJ and Kaplan, LA. Methods in Clinical Chemistry. The CV Mosby Company, St. Louis MO, 1987.
4. Kluthe R et al. Nature 1965; 205: 93-94.
5. Tarukosky PH et al. Scand J Clin Lab Invest 1966; 18: 80-86.
6. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 4th ed. AACC Pres, 1995.
7. Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 3th ed. AACC Pres, 1997.

PACKAGING

Ref.: TK1102074

Cont.

R1. Diluent: 2 x 24 mL

R2. Antibody: 2 x 6 mL

Determinación cuantitativa de Haptoglobina (HAPTO) IVD

Conservar a 2 - 8°C.

PRINCIPIO DEL METODO

Los anticuerpos anti-haptoglobina forman compuestos insolubles cuando se combinan con la haptoglobina de la muestra del paciente, ocasionando un cambio de absorbancia proporcional a la concentración de haptoglobina en la muestra, y que puede ser cuantificada por comparación con un calibrador de haptoglobina de concentración conocida.

SIGNIFICADO CLINICO

La haptoglobina es una α_2 -glicoproteína sintetizada por el hígado, y capaz de unirse a la hemoglobina irreversiblemente. Los complejos hapto-hemoglobina, así como, la haptoglobina libre, juegan un papel importante en la conservación del hierro y la prevención de posibles daños renales producidos por la excreción de hemoglobina. La concentración de haptoglobina, como proteína de fase aguda, se incrementa como consecuencia de procesos inflamatorios, necrosis de tejidos o neoplasias.

La disminución de haptoglobina en el plasma es consecuencia de hemólisis in vivo, la presencia de estrógenos en el embarazo y de la terapia contraceptiva, así como de diversas formas de enfermedad aguda o crónica del hígado incluida la hepatitis viral aguda. El ensayo de haptoglobina se usa principalmente para la determinación y seguimiento de alteraciones hemolíticas. Bajo circunstancias normales, diariamente se destruyen o se eliminan de la circulación el 1% de los hematíes circulantes. Un incremento de tan solo un 2% de destrucción, reducirá completamente la concentración de haptoglobina en ausencia de estímulos de producción como inflamaciones o terapia de corticoides.

REACTIVOS

Diluyente (R1)	Tampón tris 20 mmol/L, PEG 8000, pH, 8,3. Conservante.
Anticuerpo (R2)	Suero de cabra, anti-haptoglobina humana, pH 7,5. Conservante.
Opcional:	Ref: 1102003 PROT CAL.

CALIBRACION

El ensayo está calibrado frente a un Material de Referencia ERM-DA470k/IFCC. Debe utilizarse el PROT CAL para la Calibración.

PREPARACION

Reactivos: Listos para el uso.

Curva de Calibración: Preparar las siguientes diluciones del Calibrador PROT CAL en NaCl 9 g/L como diluyente. Para obtener las concentraciones de cada dilución de haptoglobina, multiplicar la concentración de haptoglobina del calibrador por el factor correspondiente indicado en la tabla:

Dilución calibrador	1	2	3	4	5	6
Calibrador (μ L)	--	10	25	50	75	100
NaCl 9 g/L (μ L)	100	90	75	50	25	-
Factor	0	0,1	0,25	0,5	0,75	1,0

CONSERVACION Y ESTABILIDAD

Todos los componentes del kit son estables hasta la fecha de caducidad cuando se mantienen los viales bien cerrados a 2-8°C, y se evita la contaminación durante su uso. No utilizar reactivos que hayan sobrepasado la fecha de caducidad.

Indicadores de deterioro: La presencia de partículas y turbidez. No congelar; la congelación del Anticuerpo o Diluyente puede afectar la

funcionalidad de los mismos.

MATERIAL ADICIONAL

- Autoanalizador Spintech 240
- Equipamiento habitual de laboratorio.

MUESTRAS

Suero o plasma fresco, recogido con heparina o EDTA como anticoagulantes. Estable 7 días a 2-8°C o 3 meses a -20°C.

Las muestras con restos de fibrina deben centrifugarse. No utilizar muestras altamente hemolizadas o lipémicas.

VALORES DE REFERENCIA²

Entre 30 – 200 mg/dL. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

CONTROL DE CALIDAD

Se recomienda utilizar sueros control para controlar los ensayos tanto en procedimiento manual como en automático. Spinreact dispone del PROT CONTROL Ref: 1102004.

Cada laboratorio debería establecer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias exigidas.

NOTAS

1. El diagnóstico clínico no debe realizarse únicamente con los resultados de un único ensayo, sino que debe considerarse al mismo tiempo los datos clínicos del paciente.

APLICACION AL SPINTECH 240 / 300

Item Name HAPTO		CALIBRATION	
<u>DATA INFORMATION</u>		TYPE	Spline
Units	mg/dL	STANDARD	
Decimals	1	#1	0.10 x Cal.Val.
<u>ANALYSIS</u>		#2	0.25x Cal.Val.
Type	END	#3	0.50 x Cal.Val.
#4	0.75 x Cal.Val.	#5	1.00 x Cal.Val.
#6		<u>NORMAL RANGE</u>	
W.Length 1	340	SERUM	MALE
Method	Turbidimetría	URINE	FEMALE
SLOPE	INTER	LOW	HIGH
1.000 x +	0	<u>ASPIRATION</u>	
Item Name HAPTO		<u>DATA PROCESS</u>	
<u>ASPIRATION</u>		<u>ABSORBANCE LIMIT</u>	
KIND	Single <input type="checkbox"/> Double <input checked="" type="checkbox"/>	READ	LOW -3.000
VOLUME**		START	END
SAMPLE	3 μ L	MAIN	40 41
REAGENT 1	240 μ L	SUB	28 29
REAGENT 2	60 μ L	ENDPOINT LIMIT 3	
Third Mix <input checked="" type="checkbox"/> OFF <input type="checkbox"/> ON		LINEAR CHECK (%)	
R1 Blank	Water <input checked="" type="checkbox"/> R1-B <input type="checkbox"/>	<u>FACTOR</u>	
<u>MONITOR</u>		Blank Correction 1.000	
0 LEVEL POINT	1	<u>PROZONE CHECK</u>	
SPAN	3.000	START	END
		LIMIT (%)	
		FIRST	<input checked="" type="checkbox"/> Low <input checked="" type="checkbox"/> High
		SECOND	<input checked="" type="checkbox"/> Low <input checked="" type="checkbox"/> High
		THIRD	<input checked="" type="checkbox"/> Low <input checked="" type="checkbox"/> High

** Modificar los volúmenes de reactivos y muestra en función de los rangos aceptados, pero manteniendo siempre la ratio descrita anteriormente. Es necesario solicitar el blanco en este parámetro para obtener resultados correctos en la pantalla principal de CALIB. La Calibración de este parámetro es estable hasta 30 días.

CARACTERISTICAS DEL METODO

1. **Rango de medida:** hasta 300 mg/dL en las condiciones descritas del ensayo. Las muestras con valores superiores deben diluirse 1/5 con NaCl 9 g/L y ensayarse de nuevo. El intervalo de medida depende de la relación muestra/reactivo. Disminuyendo el volumen de muestra, se aumenta el límite superior del intervalo de medida, aunque se reduce la sensibilidad.
2. **Límite de detección:** valores por debajo de 1,3 mg/dL dan lugar a resultados poco reproducibles.
3. **Sensibilidad:** 4,96 mA / mg/dL. (100 mg/dL).
4. **Efecto prozona:** No se observa hasta valores de 1200 mg/dL.
5. **Precisión:** El reactivo ha sido probado durante 20 días con tres niveles diferentes de suero en un estudio basado en las normas EP5 (NCCLS).

EP5	CV (%)		
	39,25 mg/dL	97,35 mg/dL	191,5 mg/dL
Total	8%	3,2%	2,3%
Within Run	1,5%	0,9%	1,2%
Between Run	6,7%	2,3%	1,2%
Between Day	4%	2%	1,5%

6. **Exactitud:** El comportamiento de este método (y) fue comparado con el método de Beckman (System Array 360 CE). 35 muestras de concentraciones de Haptoglobina entre 10 y 400 mg/dL fueron analizadas con ambos métodos. El coeficiente de regresión (r) fue de 0,95 y la ecuación de la recta de regresión $y = 0,88x + 4,8$. Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

BIBLIOGRAFIA

1. Clinical Guide to Laboratory Tests, Edited by NW Tietz W B Saunders Co., Philadelphia, 483, 1983.
2. Dati F et al. Eur J Clin Chem Clin Biochem 1996; 34:517-520.
3. Pesce AJ and Kaplan, LA. Methods in Clinical Chemistry. The CV Mosby Company, St. Louis MO, 1987.
4. Kluthe R et al. Nature 1965; 205: 93-94.
5. Tarukosky PH et al. Scand J Clin Lab Invest 1966; 18: 80-86.
6. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 4th ed. AACC Pres, 1995.
7. Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 3th ed. AACC Pres, 1997.

PRESENTACION

Ref.:TK1102074	Cont.	R1. Diluyente: 2 x 24 mL
		R2. Anticuerpo: 2 x 6 mL

Détermination quantitative d'haptoglobine (HAPTO) IVD

Conserver à 2 - 8°C.

USAGE RECOMMANDÉ

HAPTO est un essai turbidimétrique pour quantifier l'haptoglobine en sérum ou plasma humain.

PRINCIPE DE LA MÉTHODE

Les anticorps anti-haptoglobine forment des composés insolubles quand ils sont associés avec l'haptoglobine de l'échantillon du patient, occasionnant un changement d'absorbance proportionnel à la concentration d'haptoglobine dans l'échantillon, et qui peut être quantifiée par comparaison avec un calibre d'haptoglobine de concentration connue.

SIGNIFICATION CLINIQUE

 L'haptoglobine est une α_2 -glycoprotéine synthétisée par le foie, et capable de s'unir à l'hémoglobine de manière irréversible. Les complexes hapto-hémoglobine, ainsi que, l'haptoglobine libre, jouent un rôle important dans la conservation du fer et la prévention de dommages rénaux éventuels produits par l'excrétion d'hémoglobine. La concentration d'haptoglobine, comme protéine de phase aiguë, augmente suite à des processus inflammatoires, nécrose de tissus ou néoplasies.

La diminution d'haptoglobine dans le plasma est la conséquence d'hémolyse in vivo, la présence d'oestrogènes au cours de la grossesse et de la thérapie contraceptive, ainsi que de diverses formes de maladie aiguë ou chronique du foie y compris l'hépatite virale aiguë. L'essai d'haptoglobine est essentiellement utilisé pour déterminer et suivre les altérations hémolytiques. Dans des circonstances normales, 1% des hématies circulantes sont détruites ou éliminées quotidiennement de la circulation. Une augmentation de seulement 2% de destruction réduira entièrement la concentration d'haptoglobine en l'absence de stimulation de production telles que des inflammations ou traitement à base de corticoïdes.

RÉACTIFS

Diluant (R1)	Tampon tris 20 mmol/L, PEG 8000, pH, 8,3. Conservateur.
Anticorps (R2)	Sérum de chèvre, anti-haptoglobine humaine, pH 7,5. Conservateur.
En option :	Réf : 1102003 PROT CAL

ÉTALONNAGE

L'essai est étalonné par rapport à un matériel de référence ERM-DA470k/IFCC. Pour l'étalonnage il faut utiliser le PROT CAL.

PRÉPARATION
Réactifs : Prêt à l'usage.

Courbe d'étalonnage: Préparer les dilutions suivantes du Calibrateur haptoglobine dans NaCl 9 g/L. Pour la concentration de chaque dilution de haptoglobine, multiplier le concentration du calibrateur par le facteur correspondant indiqué dans le tableau:

Dilution calibrateur	1	2	3	4	5	6
Calibrateur (μ L)	--	10	25	50	75	100
NaCl 9 g/L (μ L)	100	90	75	50	25	-
Facteur	0	0,1	0,25	0,5	0,75	1,0

CONSERVATION ET STABILITÉ

Tous les composants du kit sont stables jusqu'à la date d'expiration quand les flacons sont gardés bien fermés à 2-8°C, et que la contamination est évitée au cours de leur utilisation. Ne pas utiliser de réactifs qui ont dépassé la date d'expiration.

Indicateurs de détérioration : Présence de particules et de turbidité.

Ne pas congeler, la congélation de l'anticorps ou du diluant peut affecter leur fonctionnalité.

MATÉRIEL SUPPLÉMENTAIRE

- Auto-analyseur SPINTECH 240.
- Equipement classique de laboratoire.

ÉCHANTILLONS

Sérum ou plasma frais, recueilli avec héparine ou EDTA comme anticoagulants. Stable 7 jours à 2-8°C ou 3 mois à -20°C.

Les échantillons avec des restes de fibrine doivent être centrifugés.

Ne pas utiliser d'échantillons fortement hémolysés ou lypémiques.

VALEURS DE RÉFÉRENCE²

Entre 30 - 200 mg/dL. Chaque laboratoire devrait établir ses propres valeurs de référence.

CONTRÔLE DE QUALITÉ

Il est recommandé d'utiliser des sérums de contrôle, afin de contrôler les essais aussi bien lors de procédures manuelles qu'automatiques. Spinreact dispose du PROT CONTROL Réf : 1102004.

Chaque laboratoire doit établir son propre Contrôle de Qualité et des corrections en cas de non-conformité des contrôles en termes de tolérances exigées.

REMARQUES

1. Le diagnostic clinique ne doit pas être réalisé uniquement avec les résultats d'un seul essai, mais doit également tenir compte des données cliniques du patient.

APPLICATION AU SPINTECH 240 / 300

Item Name HAPTO			
DATA INFORMATION		CALIBRATION	
Units	mg/dL	TYPE	Spline
Decimals	1		
ANALYSIS		STANDARD	
Type	END	#1	0.10 x Cal.Val. #4 0.75 x Cal.Val.
W.Length 1	340	#2	0.25 x Cal.Val. #5 1.00 x Cal.Val.
		#3	0.50 x Cal.Val. #6
		NORMAL RANGE	
Method	Turbidimetry		LOW HIGH
		SERUM	MALE FEMALE
		URINE	
SLOPE	INTER		
1.000 x +	0		
Item Name HAPTO			
ASPIRATION		DATA PROCESS	
KIND	Single <input type="checkbox"/> Double <input checked="" type="checkbox"/>	READ	ABSORBANCE LIMIT
		START END	LOW -3.000
	VOLUME**	MAIN 40 41	HIGH 3.000
SAMPLE	3 μ L	SUB 28 29	
REAGENT 1	240 μ L		ENDPOINT LIMIT 3
REAGENT 2	60 μ L		LINEAR CHECK (%)
		FACTOR	
Third Mix	<input checked="" type="checkbox"/> OFF <input type="checkbox"/> ON	Blank Correction	1.000
R1 Blank	Water <input checked="" type="checkbox"/> R1-B		
MONITOR		PROZONE CHECK	
0 LEVEL POINT	1	START END LIMIT (%)	
SPAN	3.000	FIRST	
		SECOND	<input checked="" type="checkbox"/> Low High
		THIRD	<input checked="" type="checkbox"/> Low High

** Modifier les réactifs et les volumes d'échantillons selon la gamme acceptée mais en gardant toujours le ratio mentionné.

L'étalonnage est stable jusqu'à 30 jours. Passé ce délai, doit étalonner de nouveau pour obtenir de bons résultats.

CARACTÉRISTIQUES DE LA MÉTHODE

1. **Limite de linéarité:** jusqu'à 300 mg/dL dans les conditions décrites de l'essai. Les échantillons avec des valeurs supérieures doivent être dilués 1/5 avec NaCl 9 g/L et testés à nouveau. L'intervalle de mesure dépend du rapport échantillon/réactif. En réduisant le volume d'échantillon, on augmente la limite supérieure de l'intervalle de mesure, même si la sensibilité est réduite.
2. **Limite de détection:** les valeurs en dessous de 1,3 mg/dL entraînent des résultats peu reproductibles.
3. **Sensibilité:** 4,96 mA / mg/dL.(100 mg/dL).
4. **Effet prozone:** Aucun effet prozone n'a été observé jusqu'à des valeurs de 1200 mg/dL.
5. **Précision:** Le réactif a été testé pendant 20 jours avec trois niveaux de sérum différents dans une étude basée sur les normes EP5 (NCCLS).

EP5	CV (%)		
	39,25 mg/dL	97,35 mg/dL	191,5 mg/dL
Total	8%	3,2%	2,3%
Pendant l'exécution	1,5%	0,9%	1,2%
Entre l'exécution	6,7%	2,3%	1,2%
Entre jours	4%	2%	1,5%

6. **Exactitude:** Le comportement de cette méthode (y) a été comparé avec la méthode Beckman (System Array 360 CE). 35 échantillons de concentrations d'haptoglobine entre 10 et 400 mg/dL ont été analysés avec les deux méthodes. Le coefficient (r) a été de 0,95 et l'équation de la droite de régression $y = 0,88x + 4,8$.

Les caractéristiques de la méthode peuvent varier selon l'analyseur utilisé.

BIBLIOGRAPHIE

1. Clinical Guide to Laboratory Tests, Edited by NW Tietz W B Saunders Co., Philadelphia, 483, 1983.
2. Dati F et al. Eur J Clin Chem Clin Biochem 1996; 34:517-520.
3. Pesce AJ and Kaplan, LA. Methods in Clinical Chemistry. The CV Mosby Company, St. Louis MO, 1987.
4. Kluthe R et al. Nature 1965; 205: 93-94.
5. Tarukosky PH et al. Scand J Clin Lab Invest 1966; 18: 80-86.
6. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 4th ed. AACC Pres, 1995.
7. Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 3th ed. AACC Pres, 1997.

PRÉSENTATION

Réf.: TK1102074

Cont.

R1. Diluant: 2 x 24 mL

R2. Anticorp: 2 x 6 mL

Determinação quantitativa de Haptoglobina (HAPTO)

IVD

Conservar a 2 – 8 °C.

UTILIZAÇÃO RECOMENDADA

HAPTO é um ensaio turbidimétrico para a quantificação de haptoglobina no soro o plasma humano.

PRINCÍPIO DO MÉTODO

Os anticorpos anti-haptoglobina formam compostos insolúveis quando se combinam com a haptoglobina da amostra do doente, provocando uma alteração na absorvância proporcional à concentração de haptoglobina na amostra, e que pode ser quantificada por comparação com um calibrador de haptoglobina de concentração conhecida.

SIGNIFICADO CLÍNICO

A haptoglobina é uma α_2 -glicoproteína sintetizada pelo fígado, e capaz de se ligar à hemoglobina irreversivelmente. Os complexos hapto-hemoglobina, assim como, a haptoglobina livre, desempenham um papel importante na conservação do ferro e na prevenção de possíveis danos renais produzidos pela excreção de hemoglobina. A concentração de haptoglobina, como proteína de fase aguda, aumenta como resultado de processos inflamatórios, necrose de tecidos ou neoplasias.

A diminuição da haptoglobina no plasma é resultado de hemólise *in vivo*, da presença de estrogénios na gravidez e da terapia contraceptiva, assim como de diversas formas de doença aguda ou crónica do fígado, incluindo a hepatite vírica aguda. O ensaio de haptoglobina é utilizado principalmente para a determinação e seguimento de alterações hemolíticas. Em circunstâncias normais, são diariamente destruídas ou eliminadas da circulação, 1% das hemácias circulantes. Um aumento de apenas 2% na destruição, reduzirá completamente a concentração de haptoglobina na ausência de estímulos de produção como inflamações ou terapia com corticóides.

REAGENTES

Solvente (R1)	Tampão tris 20 mmol/l, PEG 8000, pH, 8,3. Conservante.
Anticorpo (R2)	Soro de cabra, anti-haptoglobina humana, pH 7,5. Conservante.
Opcional:	Ref: 1102003 PROT CAL.

CALIBRAÇÃO

O ensaio está calibrado comparativamente a um Material de Referência ERM-DA470k/IFCC. O calibrador PROT CAL deve ser utilizado para a calibração.

PREPARAÇÃO

Reagentes: Prontos a utilizar.

Curva de Calibração: Preparar as seguintes soluções PROT CAL Calibrador em NaCl 9 g/L de diluente. Para as concentrações de cada diluição de haptoglobina, multiplicar a concentração de haptoglobina calibrador pelo factor correspondente indicado na tabela:

Diluição do calibrador	1	2	3	4	5	6
Calibrador (μ L)	--	10	25	50	75	100
NaCl 9 g/L (μ L)	100	90	75	50	25	-
Factor	0	0,1	0,25	0,5	0,75	1,0

CONSERVAÇÃO E ESTABILIDADE

Todos os componentes do kit são estáveis até à data de validade quando os frascos são mantidos bem fechados a 2-8 °C e se evita a contaminação durante a sua utilização. Não utilizar reagentes que tenham excedido a data de validade indicada.

Indicadores de degradação: Presença de partículas e turvação.

Não congelar; a congelação do Anticorpo ou Solvente pode afetar a sua funcionalidade.

MATERIAL ADICIONAL

- Autoanalisador SPINTECH 240.
- Equipamento habitual de laboratório.

AMOSTRAS

Soro ou plasma fresco, recolhido com heparina ou EDTA como anticoagulantes.

Estável durante 7 dias a 2 – 8 °C ou durante 3 meses a -20 °C.

A amostras com resíduos de fibrina devem ser centrifugadas.

Não utilizar amostras altamente hemolizadas ou lipémicas.

VALORES DE REFERENCIA²

Entre 30 – 200 mg/dl. É recomendável que cada laboratório estabeleça os seus próprios valores de referência.

CONTROLO DE QUALIDADE

Recomenda-se utilizar soros controlo para controlar os ensaios tanto no procedimento manual como automático. A Spinreact dispõe do PROT CONTROL Ref: 1102004.

Cada laboratório deve dispor do seu próprio Controlo de Qualidade e estabelecer ações corretivas no caso de os controlos não estarem de acordo com as tolerâncias aceitáveis.

NOTAS

1. O diagnóstico clínico não deve realizar-se unicamente através dos resultados de um único ensaio, devendo considerar-se em simultâneo os dados clínicos do doente.

APLICAÇÃO AO SPINTECH 240 / 300

Item Name HAPTO			
<u>DATA INFORMATION</u>		<u>CALIBRATION</u>	
Units	mg/dL	TYPE	Spline
Decimals	1		
<u>ANALYSIS</u>		STANDARD	
Type	END	#1	0.10 x Cal.Val.
		#4	0.75 x Cal.Val.
		#5	1.00 x Cal.Val.
		#6	
W.Length 1	340	#3 0.50 x Cal.Val.	
Method		TURBIDIMETRY	
SLOPE		1.000 x +	
INTER		0	
Item Name HAPTO			
<u>ASPIRATION</u>		<u>DATA PROCESS</u>	
KIND	Single <input type="checkbox"/> Double <input checked="" type="checkbox"/>	<u>READ</u>	<u>ABSORBANCE LIMIT</u>
		START	END
		MAIN	40 41
		SUB	28 29
VOLUME**		ENDPOINT LIMIT 3	
SAMPLE	3 μ L	LINEAR CHECK (%)	
REAGENT 1	240 μ L		
REAGENT 2	60 μ L		
<u>FACTOR</u>		Blank Correction 1.000	
Third Mix	<input checked="" type="checkbox"/> OFF <input type="checkbox"/> ON		
R1 Blank	Water <input checked="" type="checkbox"/> R1-B		
<u>MONITOR</u>		<u>PROZONE CHECK</u>	
0 LEVEL POINT	1	START	END
SPAN	3.000	LIMIT (%)	
		FIRST	
		SECOND	<input checked="" type="checkbox"/> Low High
		THIRD	<input checked="" type="checkbox"/> Low High

** Modifique os reagentes e os volumes da amostra de acordo com o intervalo aceito, mas mantendo sempre a proporção mencionada.

A Calibração juntamente com o branco de reagente é estável até 30 dias. Passado este período, é necessário solicitar novamente o branco do reagente para validar a calibração.

CARACTERÍSTICAS DO MÉTODO

1. **Intervalo de medição:** até 300 mg/dL nas condições descritas do ensaio. As amostras com valores superiores devem ser diluídas 1/5 com NaCl 9 g/L e serem ensaiadas novamente. O intervalo de medição depende da proporção amostra/reagente. Diminuindo o volume da amostra, aumenta-se o limite superior do intervalo de medição, embora se reduza a sensibilidade.
2. **Limite de deteção:** valores inferiores a 1,3 mg/dL originam resultados pouco reprodutíveis.
3. **Sensibilidade:** 4,96 mA / mg/dL (100 mg/dL).
4. **Efeito prozona:** não se observa até valores de 1200 mg/dL.
5. **Precisão:** o reagente foi testado durante 20 dias com três níveis diferentes de soro num estudo baseado nas normas EP5 (NCCLS).

EP5	CV (%)		
		39,25 mg/dL	97,35 mg/dL
Total	8%	3,2%	2,3%
Within Run	1,5%	0,9%	1,2%
Between Run	6,7%	2,3%	1,2%
Between Day	4%	2%	1,5%

6. **Exatidão:** o comportamento deste método (y) foi comparado com o obtido utilizando o método de Beckman (System Array 360 CE). 35 amostras com concentrações de haptoglobina entre 10 e 400 mg/dL foram analisadas com ambos métodos. O coeficiente de regressão (r) foi de 0,95 e a equação da reta de regressão y = 0,88x + 4,8.

As características do método variam de acordo com o analisador utilizado.

BIBLIOGRAFIA

1. Clinical Guide to Laboratory Tests, Edited by NW Tietz W B Saunders Co., Philadelphia, 483, 1983.
2. Dati F et al. Eur J Clin Chem Clin Biochem 1996; 34:517-520.
3. Pesce AJ and Kaplan, LA. Methods in Clinical Chemistry. The CV Mosby Company, St. Louis MO, 1987.
4. Kluthe R et al. Nature 1965; 205: 93-94.
5. Tarukosky PH et al. Scand J Clin Lab Invest 1966; 18: 80-86.
6. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 4th ed. AACC Pres, 1995.
7. Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 3th ed. AACC Pres, 1997.

APRESENTAÇÃO

Ref.: TK1102074 Cont. R1. Solvente: 2 x 24 mL
R2. Anticorpo: 2 x 6 mL