



# Haptoglobin

Método inmunoturbidimétrico para la determinación de haptoglobina en suero

## SIGNIFICACION CLINICA

La haptoglobina es una proteína de transporte y de fase aguda sintetizada en el hígado. Se une a la hemoglobina resultante de una hemólisis marcada formando un complejo haptoglobina-hemoglobina (Hp-Hb) altamente estable. La formación de complejo y su rápida eliminación del torrente sanguíneo impide la aparición de hemoglobinuria con pérdida excesiva de hierro.

Niveles bajos o indetectables de haptoglobina se hallan más frecuentemente en hemólisis intravasculares que en hemólisis extravasculares.

La determinación de haptoglobina está indicada para evaluar la gravedad y el estadio de la enfermedad hemolítica.

Los niveles de haptoglobina se encuentran disminuidos en anemias hemolíticas, mononucleosis infecciosa y en hemorragia tisular. También disminuye en enfermedades hepáticas.

Los niveles aumentan durante procesos inflamatorios agudos, colagenopatías y destrucción tisular.

## FUNDAMENTOS DEL METODO

La haptoglobina reacciona con el anticuerpo específico formando inmunocomplejos insolubles. La turbidez causada por estos inmunocomplejos es proporcional a la concentración de haptoglobina en la muestra y puede ser medida espectrofotométricamente.

## REACTIVOS PROVISTOS

**A. Reactivo A:** buffer fosfato, pH 7,4.

**B. Reactivo B:** anticuerpos policlonales anti-haptoglobina humana (cabra) en buffer fosfato, pH 7,4.

## REACTIVOS NO PROVISTOS

- Solución fisiológica.
- **Calibrador Proteínas nivel alto Turbitest AA** de Wiener lab.

## INSTRUCCIONES PARA SU USO

**Reactivos Provistos:** listos para usar.

## PRECAUCIONES

Los reactivos son para uso diagnóstico "in vitro".

Todas las muestras de pacientes deben manipularse como si fueran capaces de transmitir infección.

Utilizar los reactivos guardando las precauciones habituales de trabajo en el laboratorio de análisis clínicos.

Todos los reactivos y las muestras deben descartarse de acuerdo a la normativa local vigente.

## ESTABILIDAD E INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO

**Reactivos Provistos:** estables en refrigerador (2-10°C) hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja. No congelar.

## MUESTRA

Suero

**a) Recolección:** obtener suero de la manera usual.

**b) Aditivos:** no se requieren.

**c) Sustancias interferentes conocidas:** no emplear muestras hemolizadas, lipémicas o contaminadas.

Las muestras que poseen precipitados deben ser centrifugadas previo a su ensayo.

No se observan interferencias por bilirrubina hasta 20 mg/dl (200 mg/l), triglicéridos hasta 1350 mg/dl, hemoglobina hasta 30 mg/dl, ni factor reumatoideo hasta 300 UI/ml.

Referirse a la bibliografía de Young para los efectos de las drogas en el presente método.

**d) Estabilidad e instrucciones de almacenamiento:** la muestra debe ser preferentemente fresca. Si el ensayo no es realizado en el día, la muestra puede ser conservada 48 horas a 2-10°C o por períodos más prolongados de tiempo a -20°C.

## MATERIAL REQUERIDO (no provisto)

- Espectrofotómetro
- Cubetas espectrofotométricas de caras paralelas
- Micropipetas y pipetas para medir los volúmenes indicados
- Tubos de Kahn o hemólisis
- Cronómetro

## CONDICIONES DE REACCION

- Longitud de onda: 340 nm
- Temperatura de reacción: temperatura ambiente (25°C). El control de la temperatura no es crítico, pudiendo oscilar entre 22 y 30°C.
- Tiempo de reacción: 15 minutos
- Volumen de muestra: 10 ul
- Volumen final de reacción: 1810 ul

Los volúmenes de muestra y reactivos pueden variarse proporcionalmente, sin que se alteren los factores de cálculo.

## PROCEDIMIENTO

### CURVA DE CALIBRACION

Realizar en tubos de Kahn, las siguientes diluciones en solución fisiológica del **Calibrador Proteínas nivel alto:**

1:1, 1:2, 1:4, 1:8 y 1:16, empleando solución fisiológica como punto cero.

<b>Calibrador Proteínas diluido</b>	10 ul
-------------------------------------	-------

<b>Reactivo A</b>	1500 ul
-------------------	---------

Homogeneizar y leer la absorbancia de cada dilución a 340 nm ( $DO_1$ ) llevando a cero con agua destilada. Luego agregar:

<b>Reactivo B</b>	300 ul
-------------------	--------

Mezclar e incubar 15 minutos a temperatura ambiente. Leer la absorbancia a 340 nm ( $DO_2$ ), llevando a cero con agua destilada.

Calcular la diferencia de absorbancia ( $\Delta A = DO_2 - DO_1$ ) para cada dilución del Calibrador Proteínas, incluyendo el punto cero.

Representar en papel milimetrado las diferencias de absorbancia ( $\Delta A$ ) en función de la concentración en mg/dl del Calibrador Proteínas.

#### PROCEDIMIENTO PARA MUESTRAS

<b>Muestra</b>	10 ul
----------------	-------

<b>Reactivo A</b>	1500 ul
-------------------	---------

Homogeneizar y leer la absorbancia de cada dilución a 340 nm ( $DO_1$ ) llevando a cero con agua destilada. Luego agregar:

<b>Reactivo B</b>	300 ul
-------------------	--------

Mezclar e incubar 15 minutos a temperatura ambiente. Leer la absorbancia a 340 nm ( $DO_2$ ), llevando a cero con agua destilada.

#### LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Ver Sustancias Interferentes conocidas en MUESTRA. Para preservar la integridad de los reactivos debe evitarse todo tipo de contaminaciones, empleando para la medición únicamente micropipetas perfectamente limpias y secas.

#### PERFORMANCE

**a) Reproducibilidad:** realizando replicados de muestras con distintos niveles de haptoglobina, se calculó la precisión intraensayo:

Nivel	D.S.	C.V.
28,2 mg/dl	$\pm 1,0$ mg/dl	3,5%
110,2 mg/dl	$\pm 2,6$ mg/dl	2,4%
284,7 mg/dl	$\pm 14,9$ mg/dl	5,2%

**b) Límite de detección:** 2 mg/dl.

**c) Rango de medición:** 2 - 300 mg/dl.

**d) Efecto prozona:** no se evidencia efecto prozona hasta 1800 mg/dl de haptoglobina.

#### PARAMETROS PARA ANALIZADORES AUTOMATICOS

Referirse a las adaptaciones específicas de cada analizador.

#### PRESENTACION

60 ml: - 1 x 50 ml Reactivo A  
- 1 x 10 ml Reactivo B  
(Cód. 1009354)

60 ml: - 1 x 50 ml Reactivo A  
- 1 x 10 ml Reactivo B  
(Cód. 1009649)

60 ml: - 1 x 50 ml Reactivo A  
- 1 x 10 ml Reactivo B  
(Cód. 1009959)\*

#### BIBLIOGRAFIA

- Dati, F et al. - Proteins-Laboratory testing and clinical use, 2005.
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 5<sup>th</sup> ed., 2000.

#### CALCULO DE LOS RESULTADOS

Calcular la diferencia de absorbancia ( $\Delta A = DO_2 - DO_1$ ) correspondiente a cada muestra analizada. Interpolarse esta  $\Delta A$  en la curva de calibración para determinar la concentración en mg/dl (g/l) correspondiente a la muestra estudiada.

Las muestras con absorbancias superiores a la del Calibrador Proteínas nivel alto deben ser diluidas con solución fisiológica y procesadas nuevamente. Multiplicar el resultado obtenido por el factor de dilución.

#### METODO DE CONTROL DE CALIDAD

Se recomienda el uso de **Control Inmunológico nivel 1** o **Control Inmunológico nivel 2 Turbitest AA** de Wiener lab. El control deberá procesarse de la misma manera que las muestras.

#### VALORES DE REFERENCIA

30 - 200 mg/dl (0,30 - 2,00 g/l)

En general se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios intervalos de referencia, dentro de su población de pacientes.

Los resultados de haptoglobina deberán ser evaluados en conjunto con la historia clínica del paciente, el examen médico y otros hallazgos de laboratorio.



# Haptoglobin

Método imunoturbidimétrico para a determinação de haptoglobina em soro

## SIGNIFICADO CLÍNICO

A haptoglobina é uma proteína de transporte e de fase aguda sintetizada no fígado. É unida à hemoglobina resultante de uma hemólise marcante, formando um complexo haptoglobina-hemoglobina (Hp-Hb) muito estável. A formação do complexo e a sua rápida eliminação da circulação sanguínea, impede o aparecimento de hemoglobinúria com perda excessiva de ferro.

Níveis baixos ou indetectáveis de haptoglobina são encontrados mais freqüentemente em hemólise intravasculares do que em hemólise extravasculares.

A determinação de haptoglobina é indicada para avaliar a severidade e o estágio da enfermidade hemolítica.

Os níveis de haptoglobina encontram-se diminuídos em anemias hemolíticas, mononucleose infecciosa e em hemorragia tissular. Também está diminuída em enfermidade hepática.

Os níveis de haptoglobina aumentam durante processos inflamatórios agudos, colagenopatias e destruição tissular.

## FUNDAMENTOS DO MÉTODO

A haptoglobina reage com o anticorpo específico formando imunocomplexos insolúveis. A turbidez produzida pelos imunocomplexos é proporcional à concentração de haptoglobina na amostra e pode ser lida com espectrofotômetro.

## REAGENTES FORNECIDOS

**A. Reagente A:** tampão fosfato, pH 7,4.

**B. Reagente B:** anticorpos policlonais anti-haptoglobina humana (cabra) em tampão fosfato, pH 7,4.

## REAGENTES NÃO FORNECIDOS

- Solução fisiológica.
- **Calibrador Proteínas nível alto Turbitest AA** da Wiener lab.

## INSTRUÇÕES DE USO

**Reagentes Fornecidos:** prontos para uso.

## PRECAUÇÕES

Os reagentes são para uso diagnóstico "in vitro".

Todas as amostras de pacientes devem ser manipuladas como potencialmente infectantes.

Utilizar os reagentes observando as precauções habituais de trabalho no laboratório de análises clínicas.

Todos os reagentes e as amostras devem ser descartadas conforme à regulação local vigente.

## ESTABILIDADE E INSTRUÇÕES DE ARMAZENAMENTO

**Reagentes Fornecidos:** estáveis sob refrigeração (2-10°C) até a data do vencimento indicada na embalagem. Não congelar.

## AMOSTRA

Soro

**a) Coleta:** obter a amostra da maneira habitual.

**b) Aditivos:** não são necessários.

**c) Substâncias interferentes conhecidas:** não utilizar amostras hemolisadas, lipêmicas ou contaminadas.

As amostras que possuem precipitados devem ser centrifugadas antes de serem analisadas.

Não são observadas interferências por bilirrubina até 20 mg/dl (200 mg/l), triglicerídeos até 1350 mg/dl, hemoglobina até 30 mg/dl, nem fator reumatóide até 300 UI/ml.

Referência bibliográfica de Young para efeitos de drogas neste método.

**d) Estabilidade e instruções de armazenamento:** a amostra deve ser preferencialmente recém coletada. Caso não seja possível realizar a prova na hora, a amostra pode ser conservada 48 horas sob refrigeração (2-10°C) ou por períodos maiores a -20°C.

## MATERIAL NECESSÁRIO (não fornecido)

- Espectrofotômetro.
- Cubetas espectrofotométricas de faces paralelas.
- Micropipetas e pipetas para medir os volumes indicados.
- Tubos de Kahn ou hemólise.
- Cronômetro.

## CONDIÇÕES DE REAÇÃO

- Comprimento de onda: 340 nm
- Temperatura de reação: temp. ambiente (25°C). O controle de temperatura não é crítico, podendo oscilar entre 22 e 30°C.
- Tempo de reação: 15 minutos
- Volume de amostra: 10 ul
- Volume final de reação: 1810 ul

Os volumes de amostra e reagentes podem ser alterados proporcionalmente sem que sejam afetados os fatores de cálculo.

## PROCEDIMENTO

### CURVA DE CALIBRAÇÃO

Realizar em tubos de Kahn as seguintes diluições em solução fisiológica do Calibrador Proteínas nível alto:

1:1; 1:2; 1:4; 1:8 e 1:16 utilizando solução fisiológica como ponto zero.

<b>Calibrador Proteínas diluído</b>	10 ul
-------------------------------------	-------

<b>Reagente A</b>	1500 ul
-------------------	---------

Homogeneizar e ler a absorbância de cada diluição a 340 nm ( $DO_1$ ) zerando o aparelho com água destilada. Após adicionar:

<b>Reagente B</b>	300 ul
-------------------	--------

Misturar e incubar 15 minutos a temperatura ambiente. Ler a absorbância a 340 nm ( $DO_2$ ) zerando o aparelho com água destilada.

Calcular a diferença de absorbância ( $\Delta A = DO_2 - DO_1$ ) para cada diluição do Calibrador Proteínas, incluindo o ponto zero.

Representar numa folha de papel milimetrado as diferenças de absorbância  $\Delta A$  em função da concentração em mg/dl (g/l) do Calibrador Proteínas.

#### PROCEDIMENTO PARA AMOSTRAS

<b>Amostra</b>	10 ul
----------------	-------

<b>Reagente A</b>	1500 ul
-------------------	---------

Homogeneizar e ler a absorbância de cada diluição a 340 nm ( $DO_1$ ) zerando o aparelho com água destilada. Após adicionar:

<b>Reagente B</b>	300 ul
-------------------	--------

Misturar e incubar 15 minutos a temperatura ambiente. Ler a absorbância a 340 nm ( $DO_2$ ) zerando o aparelho com água destilada.

#### CÁLCULOS DOS RESULTADOS

Calcular a diferença de absorbância ( $\Delta A = DO_2 - DO_1$ ) que corresponde a cada amostra analisada. Interpolando os dados ( $\Delta A$ ) na curva de calibração para determinar a concentração em mg/dl (g/l) que corresponde à amostra estudada. As amostras com absorbância superior à do Calibrador Proteínas nível alto devem ser diluídas com solução fisiológica e processadas novamente. Multiplicar os resultados obtidos pelo fator de diluição.

#### MÉTODO DE CONTROLE DE QUALIDADE

É recomendado o uso de **Control Imunológico nível 1** ou **Control Imunológico nível 2 Turbitest AA** da Wiener lab. O controle é processado da mesma maneira que as amostras.

#### VALORES DE REFERÊNCIA

30 - 200 mg/dl (0,30 - 2,00 g/l).

É recomendável que cada laboratório estabeleça seus próprios valores de referência.

Os resultados de haptoglobina devem ser analisados em conjunto com a história clínica do paciente, o exame médico e outras características de laboratório.

#### LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

Vide Substâncias interferentes conhecidas em AMOSTRA. Para preservar a integridade dos reagentes, todo tipo de contaminação deve ser evitado, utilizando para a medição somente micropipetas perfeitamente limpas e secas.

#### DESEMPENHO

**a) Reprodutibilidade:** realizando replicados de amostras com diferentes níveis de haptoglobina, foi calculada a precisão intra-ensaio:

Nível	D.P.	C.V.
28,2 mg/dl	± 1,0 mg/dl	3,5%
110,2 mg/dl	± 2,6 mg/dl	2,4%
284,7 mg/dl	± 14,9 mg/dl	5,2%

**b) Limite de detecção:** 2 mg/dl.

**c) Faixa de medição:** 2 - 300 mg/dl.

**d) Efeito prozona:** não é evidenciado efeito prozona até 1800 mg/dl de haptoglobina.

#### PARÂMETROS PARA ANALISADORES AUTOMÁTICOS

Vide as adaptações específicas para cada tipo de analisador.

#### APRESENTAÇÃO

60 ml: - 1 x 50 ml Reagente A  
- 1 x 10 ml Reagente B  
(Cód. 1009354)

60 ml: - 1 x 50 ml Reagente A  
- 1 x 10 ml Reagente B  
(Cód. 1009649)

60 ml: - 1 x 50 ml Reagente A  
- 1 x 10 ml Reagente B  
(Cód. 1009959)\*

#### REFERÊNCIAS

- Dati, F et al. - Proteins-Laboratory testing and clinical use, 2005.
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 5<sup>th</sup> ed., 2000.



# Haptoglobin

Immunoturbidimetric method for quantitative determination of haptoglobin in serum

## SUMMARY

Haptoglobin is a transport protein and an acute phase protein, synthesized in liver. It binds hemoglobin released during lysis of erythrocytes yielding the haptoglobin-hemoglobin (Hp-Hb) complex highly stable. Complex formation and its rapid clearance from bloodstream prevent the appearance of hemoglobinuria avoiding excessive loss of iron.

Low or undetectable haptoglobin concentrations occur more often in intravascular hemolysis than in extravascular hemolysis.

Haptoglobin is useful to evaluate the hemolytic disease severity and status.

Haptoglobin levels are decreased in hemolytic anemias, infectious mononucleosis and tissue hemorrhage. It is also decreased in liver diseases.

Haptoglobin levels are increased during acute inflammatory process, in collagenopathias and tissue destruction.

## PRINCIPLE

Haptoglobin reacts to the specific antibody forming insoluble immune complexes. The turbidity caused by these immune complexes is proportional to haptoglobin concentration in the sample and may be spectrophotometrically measured.

## PROVIDED REAGENTS

**A. Reagent A:** phosphate buffer, pH 7.4.

**B. Reagent B:** polyclonal antibodies anti-human haptoglobin (goat) in phosphate buffer, pH 7.4.

## NON-PROVIDED REAGENTS

- Saline solution.

- Wiener lab.'s **Calibrador Proteínas nivel alto Turbitest AA**.

## INSTRUCTIONS FOR USE

**Provided Reagents:** ready to use.

## WARNINGS

The reagents are for "in vitro" diagnostic use.

All patient samples should be handled as though capable of transmitting infectious diseases.

Use the reagents according to the working procedures for clinical laboratories.

The reagents and samples should be discarded according to the local regulations in force.

## STABILITY AND STORAGE INSTRUCTIONS

**Provided Reagents:** stable at 2-10°C until the expiration date stated on the box. Do not freeze.

## SAMPLE

Serum

**a) Collection:** obtain in the usual way.

**b) Additives:** not required.

**c) Known interfering substances:** do not use hemolyzed, lipemic or contaminated samples. Before testing, particles in samples should be removed by centrifugation.

No interferences are observed with bilirubin up to 20 mg/dl, triglycerides up to 1350 mg/dl, hemoglobin up to 30 mg/dl and rheumatoid factor up to 300 IU/ml.

See Young, D.S. in References for effect of drugs on the present method.

**d) Stability and storage instructions:** sample should be preferably fresh. In case it cannot be processed immediately, sample can be kept for up to 48 hours at 2-10°C or for longer period store at -20°C.

## REQUIRED MATERIAL (non-provided)

- Spectrophotometer
- Square spectrophotometric cuvettes
- Micropipettes and pipettes for measuring the stated volumes
- Kahn or hemolysis tubes
- Stopwatch

## ASSAY CONDITIONS

- Wavelength: 340 nm
- Reaction temperature: room temperature (25°C). Temperature control is not critical, it can range between 22 and 30°C.
- Reaction time: 15 minutes
- Sample volume: 10 ul
- Final reaction volume: 1810 ul

Sample and reagents volumes may be proportionally changed without affecting the calculation factors.

## PROCEDURE

### CALIBRATION CURVE

In Kahn tubes dilute the **Calibrador Proteínas nivel alto** with saline solution 1:1, 1:2, 1:4, 1:8 and 1:16, using saline solution as the zero point.

<b>Diluted Calibrador Proteínas</b>	10 ul
-------------------------------------	-------

<b>Reagent A</b>	1500 ul
------------------	---------

Homogenize and measure the absorbance of each dilution at 340 nm (OD<sub>340</sub>), setting the instrument to zero with distilled water. Then, add:

<b>Reagent B</b>	300 ul
------------------	--------

Mix and incubate 15 minutes at room temperature. Measure the absorbance at 340 nm ( $OD_2$ ), setting the instrument to zero with distilled water.

Calculate the absorbance difference ( $\Delta A = OD_2 - OD_1$ ) for each Calibrador Proteínas dilution, including the zero point.

Draw on graph paper the absorbance differences (DA) based on the Calibrador Proteínas concentration in mg/dl (g/l).

#### SAMPLES PROCEDURE

<b>Sample</b>	10 ul
---------------	-------

<b>Reagent A</b>	1500 ul
------------------	---------

Homogenize and measure the absorbance at 340 nm ( $OD_1$ ), setting the instrument to zero with distilled water. Then add:

<b>Reagent B</b>	300 ul
------------------	--------

Mix and incubate 15 minutes at room temperature. Measure the absorbance at 340 nm ( $OD_2$ ), setting the instrument to zero with distilled water.

#### Intra-assay precision

Level	S.D.	C.V.
28.2 mg/dl	$\pm 1.0$ mg/dl	3.5%
110.2 mg/dl	$\pm 2.6$ mg/dl	2.4%
284.7 mg/dl	$\pm 14.9$ mg/dl	5.2%

**b) Detection limit:** 2 mg/dl.

**c) Measuring range:** 2 - 300 mg/dl.

**d) Prozone effect:** not noted until 1800 mg/dl haptoglobin.

#### WIENER LAB. PROVIDES

60 ml: - 1 x 50 ml Reagent A

- 1 x 10 ml Reagent B

(Cat. N° 1009354)

60 ml: - 1 x 50 ml Reagent A

- 1 x 10 ml Reagent B

(Cat. N° 1009649)

60 ml: - 1 x 50 ml Reagent A

- 1 x 10 ml Reagent B

(Cat. N° 1009959)\*

#### REFERENCES

- Dati, F et al. - Proteins-Laboratory testing and clinical use, 2005.

- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 5th ed., 2000.

#### CALCULATIONS

Calculate the absorbance difference ( $\Delta A = OD_2 - OD_1$ ) for each sample tested. Interpolate this  $\Delta A$  in the calibration curve to determine the concentration in mg/dl (g/l) corresponding to the sample under study. Samples with an absorbance above that of the Calibrador Proteínas Nivel Alto must be diluted with saline solution and processed again. Multiply the obtained result by the dilution factor.

#### QUALITY CONTROL METHOD

Wiener lab.'s **Control Inmunológico nivel 1** or **Control Inmunológico nivel 2 Turbitest AA**.

The Control should be processed in the same manner as the samples.

#### REFERENCE VALUES

30 - 200 mg/dl (0.30 - 2.00 g/l)

Each laboratory should set its own reference values.

Haptoglobin results should be evaluated together with the patient's medical history, medical examination and other laboratory findings.

#### PROCEDURE LIMITATIONS

See Known interfering substances under SAMPLE.

It is recommended to perform a complete recalibration when changing reagent lot or when suggested by Quality Control.

Avoid contamination to preserve the integrity of the reagents. Only use thoroughly clean and dry micropipettes for measurement.

#### PERFORMANCE

**a) Reproducibility:** replicates of samples containing different Haptoglobin levels were assayed and the following results were obtained:





# Haptoglobin

Do ilościowego oznaczenia haptoglobiny  
w surowicy metodą immunoturbidymetryczną

Nr kat. 1009354  
Nr kat. 1009649  
Nr kat. 1009959

## WSTĘP

Haptoglobina jest białkiem transportowym i białkiem ostrej fazy syntetyzowanym w wątrobie. Białko to wiąże hemoglobinę uwalnianą podczas lizy erytrocytów, tworząc bardzo trwałe kompleksy haptoglobina–hemoglobina (Hb-Hg). Tworzenie kompleksu i jego szybkie usuwanie z krwioobiegu zapobiega pojawieniu się hemoglobinurii i nadmiernej utracie żelaza.

Niski lub nieznaczalny poziom haptoglobiny występuje częściej w hemolizie wewnątrznaczyniowej niż pozanaczyniowej.

Haptoglobina jest użyteczna w określeniu rodzaju i ostrości choroby hemolitycznej. Poziom haptoglobiny jest obniżony u pacjentów z anemią hemolityczną, zakaźną mononukleozą i krwawieniem do tkanek. Jest również obniżona u pacjentów z chorobami wątroby.

Poziom haptoglobiny jest podwyższony w ostrych stanach zapalnych, kolagenozach i uszkodzeniach tkankowych.

## ZASADA DZIAŁANIA

Haptoglobina reaguje ze specyficznym przeciwciałem tworząc nierozpuszczalne kompleksy immunologiczne. Zmętnienie spowodowane powstaniem immunologicznych kompleksów jest proporcjonalne do stężenia haptoglobiny w próbce i jest mierzone spektrofotometrycznie.

## DOSTARCZANE ODCZYNNIKI

**A. Odczynnik A:** bufor fosforanowy, pH 7.4.

**B. Odczynnik B:** przeciwciało poliklonalne przeciwko ludzkiej haptoglobinie (koza) w buforze fosforanowym, pH 7.4.

## NIEDOSTARCZANE ODCZYNNIKI

- Sól fizjologiczna (0,9%).
- Apo Calibrator Turbitest AA Wiener lab.

## INSTRUKCJA UŻYCIA

**Dostarczane odczynniki:** gotowe do użycia.

## OSTRZEŻENIA

Odczynniki tylko do diagnostyki "in vitro".

Przy pracy z odczynnikiem stosować środki ostrożności typowe dla rutynowych procedur w laboratoriach klinicznych. Odpady należy utylizować zgodnie z obowiązującymi przepisami.

## TRWAŁOŚĆ I WARUNKI PRZECHOWYWANIA

Dostarczane odczynniki są trwałe do końca daty ważności umieszczonej na opakowaniu, jeśli są przechowywane w temperaturze 2-10°C. Nie zamrażać.

## MATERIAŁ

Surowica

**a) Pobranie:** pobrać krew w klasyczny sposób.

**b) Substancje dodatkowe:** nie wymagane.

**c) Znane interakcje:** próbek z hemolizą, lipemicznych i zanieczyszczonych nie należy stosować. Badane próbki należy odwirować przed wykonaniem oznaczenia. Bilirubina do 20 mg/dl, hemoglobina do poziomu 30 mg/dl, triglicerydy do 1350 mg/dl i czynnik reumatoidalny do 300 IU/ml nie mają wpływu na wynik badania.

Wpływ leków: patrz dane źródłowe Young D.S., pozycja w j. polskim.

**d) Trwałość i warunki przechowywania:** oznaczenie w surowicy należy wykonać bezpośrednio po pobraniu. Jeśli nie jest to możliwe próbkę można przechowywać do 48 godzin w temperaturze 2-10°C lub przez dłuższy okres czasu w temperaturze -20°C.

## WYMAGANE MATERIAŁY I SPRZĘT (nie dostarczone)

- Mikropipety i pipety do pomiaru objętości.
- Spektrofotometr.
- Kuwety do spektrofotometru.
- Probówki do hemolizy lub kahnna.
- Stoper.

## WARUNKI OZNACZENIA

- Długość fali 340 nm.
  - Temperatura reakcji: temperatura pokojowa (25°C), może się wahać pomiędzy 22 a 30°C.
  - Czas reakcji: 15 minut
  - Objętość próbki: 10 µl
  - Końcowa objętość reakcyjna: 1810 µl
- Objętość próbki i odczynnika można zmieniać proporcjonalnie bez zmian współczynnika do wycieńczeń.

## PROCEDURA

### KRZYWA KALIBRACYJNA

W probówkach kahnna rozcieńczyć solą fizjologiczną **Calibrator Proteinás nivel alto** w stosunku 1:1, 1:2, 1:4, 1:8 i 1:16, stosując roztwór soli jako punkt zerowy.

<b>Rozcieńczony kalibrator</b>	10 µl
<b>Odczynnik A</b>	1500 µl

Wymieszać i zmierzyć absorbancję każdego rozcieńczenia przy długości fali 340 nm (OD<sub>1</sub>) po ustawieniu aparatu na zero w stosunku do wody destylowanej. Następnie dodać:

<b>Odczynnik B</b>	300 µl
Wymieszać i inkubować przez 15 minut. Odczytać absorbancję przy długości fali 340 nm (OD <sub>2</sub> ) po ustawieniu aparatu na zero w stosunku do wody destylowanej. Wyliczyć różnicę absorbancji ( $\Delta A = OD_2 - OD_1$ ) dla każdego rozcieńczenia kalibratora łącznie z punktem zerowym.	
Wykreślić na papierze milimetrowym $\Delta A$ absorbancji w stosunku do stężenia w mg/dl (g/l).	
PROCEDURA DLA PRÓBKI BADANEJ	
<b>Próbka badana</b>	10 µl
<b>Odczynnik A</b>	500 µl
Wymieszać i zmierzyć absorbancje przy długości fali 340 nm (OD <sub>1</sub> ) po ustawieniu aparatu na zero w stosunku do wody destylowanej. Następnie dodać:	
<b>Odczynnik B</b>	300 µl
Wymieszać i inkubować przez 15 minut. Odczytać absorbancję przy długości fali 340 nm (OD <sub>2</sub> ) po ustawieniu aparatu na zero w stosunku do wody destylowanej.	

#### OBLICZENIA

Wyliczyć przyrost absorbancji  $\Delta A = OD_2 - OD_1$  dla każdej badanej próbki. Poprzez ekstrapolację z krzywej kalibracyjnej  $\Delta A$  wyznaczyć odpowiadające stężenie w mg/dl (g/l) w badanej próbce. Próbkę z absorbancją wyższą od **Calibrador Proteínas nivel alto Turbitest AA** należy rozcieńczyć i oznaczyć powtórnie, mnożąc otrzymany wynik przez współczynnik rozcieńczenia.

#### METODA KONTROLI JAKOŚCI

Zaleca się stosowanie **Control Inmunológico nivel 1** lub **Control Inmunológico nivel 2 Turbitest AA**, oddzielnie dostarczanej przez Wiener lab. Materiał kontrolny należy oznaczać w ten sam sposób jak próbkę badaną.

#### ZAKRES WARTOŚCI REFERENCYJNYCH

30 - 200 mg/dl (0.30 - 2.00 g/l)

Zgodnie z zaleceniami IFCC, każde Laboratorium powinno ustalić własne zakresy wartości referencyjne.

#### OGRANICZENIA PROCEDURY

Patrz znane interakcje z innymi substancjami w rozdziale MATERIAŁ.

Zaleca się wykonywanie kompletnej kalibracji przy zmianie numeru serii odczynnika lub ze wskazań kontroli jakości. Aby zapobiec kontaminacji odczynników należy stosować jedynie czyste i suche końcówki.

#### CHARAKTERYSTYKA TESTU

**a) Powtarzalność:** oznaczano wielokrotnie próbki o różnym poziomie Haptoglobiny. Otrzymano następujące wyniki:

#### Precyzja wewnątrz seryjna

Poziom	S.D.	C.V.
28.2 mg/dl	± 1.0 mg/dl	3.5 %
110.2 mg/dl	± 2.6 mg/dl	2.4 %
284.7 mg/dl	± 14.9 mg/dl	5.2 %

**b) Liniowość testu:** do 300 mg/dl.

**c) Czulość testu:** 2 mg/dl.

**d) Efekt wysokiej dawki:** nie występuje do 1800 mg/dl Haptoglobiny.

#### WIENERLAB DOSTARCZA

60 ml: - 1 x 50 ml odczynnika A  
 - 1 x 10 ml odczynnika B  
 (Nr kat. 1009354)

60 ml: - 1 x 50 ml odczynnika A  
 - 1 x 10 ml odczynnika B  
 (Nr kat. 1009649)

60 ml: - 1 x 50 ml odczynnika A  
 - 1 x 10 ml odczynnika B  
 (Nr kat. 1009959)


#### ŹRÓDŁA


- Daiti, F et al. - Proteins-Laboratory testing and clinical use, 2005.
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 5th ed., 2000.





## SÍMBOLOS // SÍMBOLOS // SYMBOLS // OZNACZENIA

Los siguientes símbolos se utilizan en todos los kits de reactivos para diagnóstico de Wiener lab. // Os seguintes símbolos são utilizados nos kits de reagentes para diagnóstico da Wiener lab. // The following symbols are used in the packaging for Wiener lab. diagnostic reagents kits. // Następujące symbole są zastosowane na opakowaniach zestawów odczynników diagnostycznych.


 Este producto cumple con los requerimientos previstos por la Directiva Europea 98/79 CE de productos sanitarios para el diagnóstico "in vitro" // Este produto preenche os requisitos da Diretiva Europeia 98/79 CE para dispositivos médicos de diagnóstico "in vitro" // This product fulfills the requirements of the European Directive 98/79 EC for "in vitro" diagnostic medical devices // Ten produkt spełnia wymagania Dyrektywy Europejskiej 98/79 EC dla wyrobów medycznych używanych do diagnozy "in vitro"

 Representante autorizado en la Comunidad Europea // Representante autorizado na Comunidade Europeia // Authorized representative in the European Community // Autoryzowany przedstawiciel we Wspólnocie Europejskiej

 Uso diagnóstico "in vitro" // Uso médico-diagnóstico "in vitro" // "In vitro" diagnostic medical device // Wyrób do diagnostyki "in vitro"

 Contenido suficiente para <n> ensayos // Conteúdo suficiente para <n> testes // Contains sufficient for <n> tests // Zawartość wystarczająca dla <n> badań

 Fecha de caducidad // Data de validade // Use by // Użyć przed


 Límite de temperatura (conservar a) // Limite de temperatura (conservar a) // Temperature limitation (store at) // Ograniczenie dopuszczalnych temperatur


 No congelar // Não congelar // Do not freeze // Nie zamrażać

 Riesgo biológico // Risco biológico // Biological risks // Ryzyko biologiczne

 Volumen después de la reconstitución // Volume após a reconstituição // Volume after reconstitution // Objętość po rozpuszczeniu

 Contenido // Conteúdo // Contents // Zawartość

 Número de lote // Número de lote // Batch code // numer serii

 Elaborado por // Elaborado por // Manufactured by // Wytwórca

 Nocivo // Nocivo // Harmful // Substancja szkodliwa

 Corrosivo / Cáustico // Corrosivo / Caústico // Corrosive / Caustic // Substancja żrąca

 Irritante // Irritante // Irritant // Substancja drażniąca

 Consultar instrucciones de uso // Consultar as instruções de uso // Consult instructions for use // Przed użyciem zapoznać się z instrukcją


 Calibrador // Calibrador // Calibrator // Kalibrator

 Control // Controle // Control // Próba kontrolna

 Control Positivo // Controle Positivo // Positive Control // Próba kontrolna dodatnia

 Control Negativo // Controle Negativo // Negative Control // Próba kontrolna ujemna

 Número de catálogo // Número de catálogo // Catalog number // Numer katalogowy

 Wiener Laboratorios S.A.I.C.  
Riobamba 2944  
2000 - Rosario - Argentina  
<http://www.wiener-lab.com.ar>  
Dir. Téc.: Viviana E. Cétola  
Bioquímica  
Producto Autorizado A.N.M.A.T.  
PM-1102-59



**Wiener lab.**

2000 Rosario - Argentina