

Haptoglobina MonlabTest®

Turbidimetría



Determinación cuantitativa de Haptoglobina (HAPTO)

Para uso profesional de diagnóstico *in vitro*. Conservar a 2-8°C.

USO RECOMENDADO

HAPTO es un ensayo turbidimétrico para la cuantificación de haptoglobina en suero o plasma humano.

PRINCIPIO DEL MÉTODO

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 CLÍNICO

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. Azida sódica 0,95 g/L.
Anticuerpo (R2)	Suero de cabra, anti-haptoglobina humana, pH 7,5. Azida sódica 0,95 g/L.
Opcional	Multicalibrador Proteínas Séricas (MO-165044).

CALIBRACIÓN

El ensayo está calibrado frente a un Material de Referencia CRM 470/RPPHS (*Institute for Reference Materials and Measurements, IRMM*). Debe utilizarse el Multicalibrador Proteínas Séricas para la Calibración. El reactivo (tanto monoreactivo como bireactivo) se debe recalibrar cada mes, cuando los controles están fuera de especificaciones, y cuando el lote de reactivo o la configuración del instrumento cambia.

PREPARACIÓN

- **Reactivos:** Listos Para el uso.
- **Curva de Calibración:** Preparar las siguientes diluciones del Multicalibrador de Proteínas Séricas 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

CONSERVACIÓN 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: Presencia de partículas y turbidez. No congelar; la congelación del Anticuerpo o Diluyente puede afectar la funcionalidad de los mismos.

MATERIAL ADICIONAL

- Baño de agua a 37°C.
- Espectrofotómetro o fotómetro con cubeta termostatzable a 37°C para lecturas a 340 nm (320-360 nm).

MUESTRAS

Suero o plasma fresco, recogido con heparina o EDTA como anticoagulantes. Estable 7 días a 2-8°C ó 3 meses a -20°C. Las muestras con restos de fibrina deben ser centrifugadas. No utilizar muestras altamente hemolizadas o lipémicas.

PROCEDIMIENTO

1. Calentar los reactivos y el fotómetro (portacubetas) a 37°C.
2. Condiciones del ensayo:
 - Longitud de onda:340 nm
 - Temperatura:37°C
 - Paso de luz de la cubeta:1 cm
3. Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.

4. Pipetear en una cubeta:

Reactivo R1 (μ L)	800
Muestra o Calibrador (μ L)	20

5. Mezclar y leer la absorbancia (A_1) después de la adición de la muestra.

6. Inmediatamente después, pipetear en la cubeta:

Reactivo R2 (μ L)	200
------------------------	-----

7. Mezclar y leer la absorbancia (A_2) exactamente después de 2 minutos de añadir el reactivo R2.

MONLAB dispone de adaptaciones detalladas a la mayoría de los analizadores automáticos del mercado.

CÁLCULOS

Calcular la diferencia de absorbancias ($A_2 - A_1$) obtenidas para los distintos calibradores, y construir la curva de calibración de los valores obtenidos frente a las concentraciones de haptoglobina de cada dilución del Calibrador. La concentración de haptoglobina en la muestra se calcula por interpolación de su diferencia ($A_2 - A_1$) en la curva de calibración.

CONTROL DE CALIDAD

Se recomienda utilizar sueros control para controlar los ensayos tanto en procedimiento manual como en automático. Monlab dispone del Multicontrol Proteínas Séricas (MO-165045). 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.

VALORES DE REFERENCIA*

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

CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO

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.

Límite de detección: valores por debajo de 1,3 mg/dL dan lugar a resultados poco reproducibles.

Sensibilidad: 4,96 mA / mg/dL. (100 mg/dL).

Efecto prozona: No se observa hasta valores de 1200 mg/dL.

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%

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 0,98 y la ecuación de la recta de regresión $y = 0,88x + 4,8$.

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

INTERFERENCIAS

Bilirrubina (50 mg/dL), hemoglobina (50 g/L), y factores reumatoides (950 UI/mL), no interfieren. Lípidos (≥ 6 g/L), interfieren. Otras sustancias pueden interferir ^{6,7}.

NOTAS

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.

BIBLIOGRAFÍA

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.

PRESENTACIÓN

MO-165041	R1: 1 x 40 mL R2: 1 x 10 mL
-----------	--------------------------------

SÍMBOLOS UTILIZADOS PARA COMPONENTES Y REACTIVOS IVD

	Fabricante		Uso de diagnóstico <i>in vitro</i>
	No reutilizar		Consultar las instrucciones de uso
	Contiene suficiente para <n> test		Mantener seco
	Código		Límite de temperatura
	Número de lote		Fecha de caducidad