

# Haptoglobin

Diagnostic reagent for the quantitative in vitro determination of Haptoglobin in human serum by turbidimetric assay

## REF

### Content

**A00532** 1x 10 mL Haptoglobin Antibody Reagent  
 5x 25 mL PEG6 Buffer

Additionally offered:

A00704 5 x 1 ml Protein Calibrator 5 level series  
 A00580 1 x 1 ml Protein Calibrator High  
 A00703 1 x 5 ml Protein Calibrator High  
 A00701 1 x 1 ml Protein Calibrator Low  
 A00702 1 x 5 ml Protein Calibrator Low  
 A00590 1 x 1 ml Protein Control  
 A00800 1 x 5 ml Protein Control  
 A08591 1 x 1 ml Protein Control Low  
 A08823 1 x 5 ml Protein Control Low

## GENERAL INFORMATION

**Method** Immunoturbidimetric  
**Reaction** Nonlinear, endpoint  
**Wavelength** 340 nm  
**Assay Temperature** 18 – 37 °C  
**Sample** Serum  
**Measuring Range** approx. 0 – 400 mg/dL  
**Sensitivity** 1 mg/dL (Cobas Mira)  
**Hook Effect** without sample dilution: > 3,100 mg/dL (Cobas Mira)  
 with sample dilution: > 3,500 mg/dL (Cobas Mira)

### Manual Test Procedure Tests/Kit\*

without sample dilution 125  
 with sample dilution 200

### Automated Test Procedure

Instrument dependent – please ask for applications

\* calculated on amount of antibody reagent; additional buffer on request

## REAGENT COMPOSITION

### COMPONENTS

### FINAL CONCENTRATION

#### Haptoglobin Antibody Reagent

Turbidimetric grade antibody raised in the goat, monospecific for Haptoglobin variable  
 Sodium azide 0.095 %

#### PEG6 Buffer

Phosphate buffered saline  
 PEG 6 %  
 Sodium azide 0.095 %

## REAGENT PREPARATION

The reagents are liquid and ready to use.

## REAGENT STABILITY AND STORAGE

Conditions: Protect from light. Close immediately after use.

Stability: at 2 – 8 °C up to the expiration date  
 at 18 – 25 °C 1 month

Do not freeze!

## SAMPLE STABILITY AND STORAGE

Stability: at 2 – 8 °C 48 hours  
 at – 20 °C 3 months

Freeze only once!

## MANUAL TEST PROCEDURE

### Test Procedure without Sample Dilution:

Samples/Controls: ready to use

Calibration curve: Use Protein Calibrator High to generate a calibration curve by making 1:2 serial dilutions of the calibrator with 0.9% saline as diluent or use the 5 level calibrator series. Use 0.9% saline as zero point.

Pipette into test tubes:	Calibrators	Samples/Controls
Buffer	900 µL	900 µL
Cal./Ctrls/Samples	4 µL	4 µL
Mix. Read A1 of calibrators and samples/controls at 340 nm. Then add:		
Antibody Reagent	80 µL	80 µL
Mix. Incubate 5 minutes at assay temperature. Read A2 of calibrators and samples/controls at 340 nm. Calculate: $\Delta A = (A2 - A1)$		

### Test Procedure with Sample Dilution:

Sample/ Control: dilute 1:10 in saline 0.9%

Calibration curve: Use Protein Calibrator High to generate a calibration curve by making 1:10, 1:20, 1:40, 1:80 and 1:160 dilutions with 0.9% saline as diluent. Use 0.9% saline as zero point.

Pipette into test tubes	Calibrators	Samples/Controls
Buffer	900 µL	900 µL
Cal./Ctrls/Samples	20 µL	20 µL
Mix. Read A1 of calibrators and samples/controls at 340 nm. Then add:		
Antibody Reagent	50 µL	50 µL
Mix. Incubate 5 minutes at assay temperature. Read A2 of calibrators and samples/controls at 340 nm. Calculate: $\Delta A = (A2 - A1)$		

## CALCULATION

Calculate and plot  $\Delta A = (A2 - A1)$  of the calibrators versus assigned concentration values on a linear-linear graph paper. Calculate  $\Delta A$  optical densities of samples and control(s) and read values in mg/dL on the reference curve. Samples yielding absorbances above highest calibrator should be retested after further dilution.

## REFERENCE RANGE

32 – 205 mg/dL (IFCC)

It is recommended that each laboratory establishes its own normal range.

## TEST PRINCIPLE

The assay of Haptoglobin is based on turbidimetric measurement. Turbidity is caused by the formation of antigen-antibody insoluble immuno complexes. The formation of the complexes is accelerated and enhanced by PEG.

## DIAGNOSTIC IMPLICATIONS

Acute phase protein. Transport molecule for haemoglobin. Increased levels of Haptoglobin are reported in acute inflammation, collagenoses, coronary disorders, Hodgkin's disease, nephrotic syndrome and tuberculosis. Decreased levels of Haptoglobin are found in haemolytic anaemia, liver disease, congenital deficiencies and acute malaria.

## PERFORMANCE CHARACTERISTICS

### SENSITIVITY

1 mg/dL (Cobas Mira)

### ACCURACY

Controls were assayed in duplicate on a Cobas Mira.

Control	Assigned Value (mg/dL)	Measured (mg/dL)
Immunology 1 (Ciba Corning)	79 (63 - 95)	88.6
Immunology 2 (Ciba Corning)	163 (130 - 196)	165.7
Liquicheck 1 (Biorad)	63 (50 - 75)	65.1
Liquicheck 2 (Biorad)	215 (172 - 258)	206.6
Seronorm L (Nycomed)	34 (27 - 41)	34.8
Seronorm N (Nycomed)	132 (106 - 158)	130.9
Seronorm H (Nycomed)	210 (168 - 252)	232.6

## PRECISION

### Intra-Assay Precision

3 Serum Samples was consecutively measured on the Cobas Mira.

Expected Value	n	Mean	S.D.	C.V
Low	20	38.66	0.73	1.90
Medium	20	100.22	1.40	1.39
High	20	199.63	4.62	2.31

### Inter-Assay Precision

After calibration a control serum was run every day in duplicate for about 2 weeks.

Control	n	Mean	S.D.	C.V
Dialab	27	102.9	2.05	1.99

## METHOD COMPARISON

A comparison with Nephelometry gave the following results:

$y = 1.0837x - 14.528$ ;  $r = 0.9945$

## INTERFERING SUBSTANCES

No interference up to:

Bilirubin 20 mg/dL Sodium Citrate 1000 mg/dL  
 Turbidity 5 % Heparin 50 mg/dL

Hemoglobin (125 – 1,000 mg/dL) interfere with the Haptoglobin determination.

## QUALITY CONTROL

All commercially available Control sera with Haptoglobin values measured by this method may be used. We recommend the Dialab Protein Control and the Protein Control Low.

## CALIBRATION

The assay requires the use of Haptoglobin serum Calibrators. We recommend the Dialab Protein Calibrator 5 Level Series, the Protein Calibrator High or the Protein Calibrator Low.

## AUTOMATION

Applications for automated systems (with and without sample dilution) are available upon request.

## WARNINGS AND PRECAUTIONS

- The Haptoglobin reagents are intended for in vitro diagnostic use only.
- Sodium azide has been reported to form lead or copper azide in laboratory plumbing which may explode on percussion.
- Each donor unit used in the preparation of the standards and controls was found to be negative for the presence of HIV antibodies, as well as for Hepatitis B surface antigen, using a method approved by the FDA

## WASTE MANAGEMENT

Please refer to local requirements.

## REFERENCES

- Dati, F et al., Lab. Med. 13, 87 (1989)



# Haptoglobin

Diagnostisches Reagenz für den quantitativen Nachweis von Haptoglobin in Humanserum mittels turbidimetrischer Methode

## REF

## Inhalt

**A00532** 1x 10 mL Haptoglobin Antikörperreagenz  
 5x 25 mL PEG6 Puffer

Zusätzlich wird angeboten:

A00704 5 x 1 ml Protein Kalibrator 5 Level Serie  
 A00580 1 x 1 ml Protein Kalibrator Hoch  
 A00703 1 x 5 ml Protein Kalibrator Hoch  
 A00701 1 x 1 ml Protein Kalibrator Niedrig  
 A00702 1 x 5 ml Protein Kalibrator Niedrig  
 A00590 1 x 1 ml Protein Kontrolle  
 A00800 1 x 5 ml Protein Kontrolle  
 A08591 1 x 1 ml Protein Kontrolle Niedrig  
 A08823 1 x 5 ml Protein Kontrolle Niedrig

## ALLGEMEINE INFORMATION

**Methode:** Immunturbidimetrisch  
**Reaktion:** Nicht-linear, Endpunkt  
**Wellenlänge:** 340 nm  
**Testtemperatur:** 18 – 37 °C  
**Probe:** Serum  
**Messbereich:** ca. 0 – 400 mg/dL  
**Sensitivität:** 1 mg/dL (Cobas Mira)  
**Hook-Effekt** ohne Probenverdünnung: > 3,100 mg/dL (Cobas Mira)  
 mit Probenverdünnung: > 3,500 mg/dL (Cobas Mira)

## Manuelle Testdurchführung Tests/Kit\*

ohne Probenverdünnung 125  
 mit Probenverdünnung 200

## Automatische Testdurchführung

Instrumentenabhängig - Applikationen auf Anfrage

\* berechnet aufgrund der Menge des Antikörperreagenz; zusätzlicher Puffer auf Anfrage

## REAGENZENZUSAMMENSETZUNG

### KOMPONENTEN ENDKONZENTRATION

**Haptoglobin Antikörperreagenz**  
 Turbidimetrische-Grade-Antikörper aus der Ziege, monospezifisch für Haptoglobin  
 Natriumazid variabel  
 0.095 %

### PEG6 Puffer

Phosphat-gepufferte Kochsalzlösung  
 PEG 6 %  
 Natriumazid 0.095 %

## REAGENZENVORBEREITUNG

Die Reagenzien sind gebrauchsfertig.

## REAGENZENSTABILITÄT UND -LAGERUNG

Bedingungen: Vor Licht schützen. Nach Verwendung sofort verschließen.  
 Haltbarkeit: bei 2 – 8 °C bis zum Verfallsdatum  
 bei 18 – 25 °C 1 Monat

Nicht einfrieren!

## PROBENSTABILITÄT UND -LAGERUNG

Haltbarkeit: bei 2 – 8 °C 48 Stunden  
 bei – 20 °C 3 Monate

Nur einmal einfrieren!

## MANUELLE TESTDURCHFÜHRUNG

### Testdurchführung ohne Probenverdünnung:

Proben/Kontrollen: gebrauchsfertig  
 Kalibrationskurve: mit dem Protein Kalibrator Hoch eine Kalibrationskurve erstellen. Dazu eine serielle 1:2 Verdünnung des Kalibrators mit 0,9 % Kochsalzlösung herstellen oder die 5 Level Kalibratorserie verwenden. 0,9 % Kochsalzlösung als Nullpunkt verwenden.

In Küvetten pipettieren	Kalibratoren	Proben/Kontrollen
Puffer	900 µL	900 µL
Kal./Ktrl./Proben	4 µL	4 µL
Mischen. A1 der Kalibratoren und Proben/Kontrollen bei 340 nm ablesen. Dann zufügen:		
Antikörperreagenz	80 µL	80 µL
Mischen. 5 min. bei Testtemperatur inkubieren. A2 der Kalibratoren und Proben/Kontrollen bei 340 nm ablesen. Berechnung: $\Delta A = (A2 - A1)$		

### Testdurchführung mit Probenverdünnung:

Proben/Kontrollen: 1:10 mit 0,9% Kochsalzlösung verdünnen  
 Kalibrationskurve: mit dem Protein Kalibrator Hoch eine Kalibrationskurve erstellen. Dazu eine 1:10, 1:20, 1:40, 1:80 und 1:160 Verdünnung mit 0,9 % Kochsalzlösung herstellen. 0,9 % Kochsalzlösung als Nullpunkt verwenden.

In Küvetten pipettieren	Kalibratoren	Proben/Kontrollen
Puffer	900 µL	900 µL
Kal./Ktrl./Proben	20 µL	20 µL
Mischen. A1 der Kalibratoren und Proben/Kontrollen bei 340 nm ablesen. Dann zufügen:		
Antikörperreagenz	50 µL	50 µL
Mischen. 5 min. bei Testtemperatur inkubieren. A2 der Kalibratoren und Proben/Kontrollen bei 340 nm ablesen.		

## BERECHNUNG

Das  $\Delta A = (A2 - A1)$  jedes Kalibrators berechnen und gegen die angegebene Konzentration auf einem linearen Millimeterpapier auftragen. Die  $\Delta A$  optischen Dichten von Proben und Kontrolle(n) berechnen und die Werte in mg/dL auf der Referenzkurve ablesen. Proben mit Absorptionen über dem höchsten Kalibrator sollten nach Verdünnung nochmals getestet werden.

## REFERENZBEREICH

32 – 205 mg/dL (IFCC)

Jedes Labor sollte wenn möglich seinen eigenen Normalbereich ermitteln.

## TESTPRINZIP

Dieser Test für Haptoglobin basiert auf turbidimetrischer Messung. Durch Bildung von unlöslichen Antigen-Antikörper Immuno-Komplexen kommt es zu einer Trübung. Die Bildung dieser Komplexe wird durch PEG beschleunigt und verbessert.

## DIAGNOSTISCHE BEDEUTUNG

Akutphasen-Protein. Transportmolekül für Haemoglobin. Erhöhte Haptoglobin-Werte findet man bei akuten Entzündungen, Collagenosen, koronären Störungen, der Hodgkin's Krankheit, nephrotischem Syndrom und bei Tuberkulose. Erniedrigte Haptoglobin-Werte findet man bei hämolytischer Anämie, Lebererkrankungen, angeborenen Schwächen und akuter Malaria.

## LEISTUNGSMERKMALE

### SENSITIVITÄT

1 mg/dL (Cobas Mira)

### GENAUIGKEIT

Kontrollen wurden auf dem Cobas Mira in Doppelbestimmung getestet.

Kontrolle	Bestimmter Wert (mg/dL)	Gemessener Wert (mg/dL)
Immunology 1 (Ciba Corning)	79 (63 - 95)	88.6
Immunology 2 (Ciba Corning)	163 (130 - 196)	165.7
Liquicheck 1 (Biorad)	63 (50 - 75)	65.1
Liquicheck 2 (Biorad)	215 (172 - 258)	206.6
Seronorm L (Nycomed)	34 (27 - 41)	34.8
Seronorm N (Nycomed)	132 (106 - 158)	130.9
Seronorm H (Nycomed)	210 (168 - 252)	232.6

## PRÄZISION

### Präzision innerhalb der Serie

3 Serumproben wurden nacheinander auf dem Cobas Mira getestet.

Erwarteter Wert	n	Mittelwert	S.D.	C.V
Niedrig	20	38.66	0.73	1.90
Mittel	20	100.22	1.40	1.39
Hoch	20	199.63	4.62	2.31

### Präzision zwischen den Serien

Nach Kalibration wurde ein Kontrollserum täglich in Doppelbestimmung 2 Wochen lang gemessen.

Kontrolle	n	Mittelwert	S.D.	C.V
Dialab	27	102.9	2.05	1.99

## METHODENVERGLEICH

Ein Vergleich mit Nephelometrie ergab folgende Ergebnisse:  
 $y = 1.0837x - 14.528$ ;  $r = 0.9945$

## STÖRENDE SUBSTANZEN

Keine Interferenzen bis:

Bilirubin 20 mg/dL Natrium-Citrat 1000 mg/dL  
 Trübung 5 % Heparin 50 mg/dL  
 Haptoglobin (125 – 1,000 mg/dL) stört die Haptoglobin-Bestimmung.

## QUALITÄTSKONTROLLE

Alle kommerziell erhältlichen Kontrollseren, bei denen Haptoglobin mit dieser Methode gemessen wurde, können verwendet werden. Wir empfehlen die Dialab Protein Kontrolle und die Protein Kontrolle Niedrig.

## KALIBRATION

Für diesen Test werden Haptoglobin Serumkalibratoren benötigt. Wir empfehlen die Dialab Protein Kalibrator 5 Level Serie, den Protein Kalibrator Hoch oder den Protein Kalibrator Niedrig.

## AUTOMATISIERUNG

Applikationen für automatisierte Systeme (mit und ohne Probenverdünnung) sind auf Anfrage erhältlich.

## WARNUNGEN UND VORSICHTSMASSNAHMEN

- Die Haptoglobin Reagenzien sind nur für die In-Vitro-Diagnostik.
- Natriumazid bildet Blei- oder Kupferazide in Laborleitungen, was bei Erschütterung zu Explosionen führen kann.
- Jede Spendereinheit, die für die Herstellung der Standards und Kontrollen verwendet wurde, wurde negativ auf HIV-Antikörper und Hepatitis B Oberflächen-Antigen unter Verwendung einer FDA-geprüften Methode getestet.

## ABFALLENTSORGUNG

Die lokalen Bestimmungen sind zu beachten.

## BIBLIOGRAPHIE

- Dati, F et al., Lab. Med. 13, 87 (1989)

