

	Axis-Shield Active-B12 (Holotranscobalamin) EIA			CS
	REF FMABT100			

URČENO POUZE PRO POUŽITÍ ODBORNÍKY

Přečtěte si zvýrazněny

změnv. revidovaná Září 2019

URČENÉ POUŽITÍ

Test Axis-Shield Active-B12 (Holotranscobalamin) je metoda enzyme-immunoassay (EIA) ke kvantitativnímu stanovení holotranskobalaminu (HoloTC) v lidském séru. HoloTC (vitamin B₁₂ navázaný na transkobalamin) se používá jako pomůcka při stanovení diagnózy a při léčbě nedostatku vitamínu B₁₂.

ÚVOD

Do přenosu vitamínu B₁₂ po těle jsou zapojeny tři vitamíny - vnitřní faktor (IF), transkobalamin (TC) a haptokorin (HC). Tyto tři vazebné proteiny zajišťují účinné vstřebávání malých množství vitamínu B₁₂ ze stravy. TC a HC vážou vitamín B₁₂ a výsledné komplexy se nazývají holotranskobalamin (HoloTC) a holohaptokorin (HoloHC), aby byly odlišeny od proteinů, které nenesou žádný vitamín.

Hlavní frakce v oběhu, HoloHC, představuje 70–90 % vitamínu B₁₂ v krvi, ale je biologicky inertní. HoloTC představuje pouze 10–30 % vitamínu B₁₂, který cirkuluje v krvi, jedná se však o jedinou formu vitamínu B₁₂, kterou buňky v těle mohou přijímat. Protein TC sám transportuje vitamín B₁₂ z místa absorpce v ileu do tkání a bunek. Vitamín se potom internalizuje jako komplex HoloTC (vitamín B₁₂ navázaný na transkobalamin) absorpcí pomocí specifických receptorů. Tímto procesem je vitamín B₁₂ dodáván do buněk v těle a poskytujíc vitamín jako co-enzym pro důležité buněčné funkce, například pro syntézu DNA.







HoloTC má v krevním oběhu v porovnání s HoloHC kratší biologický poločas, a proto je pokles sérové koncentrace HoloTC jednou z nejčasnějších změn při negativní rovnováze vitamínu B₁₂¹.


Měření celkového B₁₂ v séru má určitá omezení, zejména proto, že většina naměřeného kobalaminu představuje kobalamin navázaný na inertní HC. Byla publikována řada studií podporující tvrzení, že HoloTC je lepším indikátorem stavu vitamínu B₁₂ než celkový kobalamin v séru B₁₂^{2,3}. Podle očekávání jsou hladiny HoloTC nízké u pacientů s biochemickými příznaky nedostatku vitamínu B₁₂⁴. Nízké hodnoty byly pozorovány u vegetariánů⁵, veganů⁶ a u populací s nízkým příjmem vitamínu B₁₂⁷. Významně nízké hodnoty HoloTC, nikoli však celkového Total B₁₂ v séru byly naměřeny u pacientů s Alzheimerovou chorobou ve srovnání s kontrolní skupinou zdravých jedinců⁸. Hladiny HoloTC odpovídají stavu vitamínu B₁₂ a nejsou ovlivněny jeho nedávným příjmem⁹.

PRINCIPY METODY

Mikrotitrové jamky se potáhnou vysoce specifickou protilátkou pro Active-B12 (Holotranscobalamin). Během první inkubace se holotranskobalamin c séru specificky váže na povrch pokrytý protilátkou. Během druhé inkubace se konjugát váže na zachycený holotranskobalamin. Jamky se potom promývají, aby se odstranily nenavázané složky. Navázaný holotranskobalamin se potom detekuje inkubací substrátem. Nakonec neutralizační roztok ukončí reakci, jejímž výsledkem je zabarvený finální produkt. Koncentrace holotranskobalaminu v pmol/l je přímo úměrná vygenerované barvě a odhaduje se interpolací z křivky odpověď dávky na kalibrátory.

KOMPONENTY SOUPRAVY

CONJ	1 × 15 mL	Alkalickou fosfatázou značená myší monoklonální protilátka na lidský transkobalamin v Tris pufru s proteinovým stabilizátorem. Konzervační látka: <0,1 % (w/v) azidu sodného. Připravena k použití.	
SUBS	1 × 15 mL	Para-nitrofenyl fosfát (pNPP), pufrový roztok. Připravena k použití. Během skladování chraňte před světlem. VAROVÁNÍ N.B.	 
SOLN STOP	1 × 15 mL	1M hydroxid sodný, (pH >10). Připravena k použití. NEBEZPEČÍ N.B.	 
BUF WASH 8X	2 × 25 mL	Fosfátový pufr. Konzervační látka: 0,72 % (w/v) azidu sodného. Před použitím nařed'te. VAROVÁNÍ N.B.	
MTP 8X12	12 × 8 jamek na mikrotitrových (odlomitelných) stripech	Potahované myší monoklonální protilátkou proti holotranskobalaminu, ve fóliovém, znovu uzavíratelném obalu s desikantem.	
CAL A - CAL F	6 × 1.0 mL	Cal A je fosfátový pufr s proteinovým (bovinním) stabilizátorem. Konzervační látka: <0,1 % (w/v) azidu sodného. Cals B-F je fosfátový pufr s proteinovým (bovinním) stabilizátorem s obsahem HoloTC. Konzervační látka: <0,1 % (w/v) azidu sodného. Připravena k použití. Během skladování chraňte před světlem. KONCENTRACE VIZ ŠTÍTEK NA AMPULCE.	

CONTROL L	1 × 1.0 mL	Fosfátový pufr s proteinovým (bovinním) stabilizátorem s obsahem HoloTC. Konzervační látka: <0,1 % (w/v) azidu sodného. Připravena k použití. Během skladování chraňte před světlem.	
CONTROL H	1 × 1.0 mL		
PRE-TREATMENT	1 × 25 mL	Citrátový pufr. Konzervační látka: <0,1 % (w/v) azidu sodného. Připravena k použití.	

STANDARDIZACE

V současné době neexistuje mezinárodně uznávaná referenční metoda a referenční materiál pro standardizaci. Kalibrátory Axis-Shield Active-B12 (Holotranscobalamin) mají návaznost na interní referenční standardy, které prošly jednorázovým přiřazením hodnot.

UCHOVÁVÁNÍ ČINIDEL

Stabilita otevřené soupravy

Souprava byla otevřena a opakovaně použita třikrát během tří měsíců bez nepříznivého vlivu na účinnost soupravy. Po použití se komponenty musí vrátit a uchovávat při teplotě 2–8 °C.

Stabilita neotevřené soupravy

Neotevřené komponenty soupravy uchovávané při 2–8 °C jsou stabilní po dobu uvedenou na etiketě.

Procedurální poznámky a zacházení se soupravou

- Komponenty soupravy uchovávejte při 2–8 °C a spotřebujte do data použitelnosti na etiketě. Činidla s prošlým datem použitelnosti nepoužívejte.
- Každá šarže činidel a kalibrátorů byla standardizována, aby produkovala správnou reakci. Nezaměňujte šarže činidel nebo kalibrátorů.
- Koncentrace kalibrátorů jsou uvedeny na štítku ampulky a mohou být se mezi šaržemi lišit.
- Chraňte před mrazem.
- Koncentrát promývacího pufru se musí před použitím naředit. Všechna ostatní činidla jsou připravena k použití.
- Pokud není mikrobiálně kontaminován, je naředěný promývací pufr stabilní nejméně 3 měsíce. Po použití uchovávejte při teplotě 2–8 °C.
- Zbytek (nepoužitých) mikrotitrových stripů vraťte do fóliového obalu s desikantem. Zajistěte, aby byly dobře uzavřené a až do doby dalšího použití uchovávejte při 2–8 °C.
- Kalibrátory, kontroly nebo substrát během skladování chraňte před světlem.
- Zabraňte kontaminaci činidel. Pro každé činidlo a každou manipulaci se vzorkem použijte vždy novou jednorázovou špičku pipety.

Indikace deteriorizace

Substrát musí být bezbarvý až velmi světle žlutý. Tmavě žluté zbarvení ukazuje na kontaminaci a činidlo se musí zlikvidovat. Zákal nebo sraženiny v některé z komponent indikují deteriorizaci a taková komponenta se musí zlikvidovat.

Sběr vzorků a uchovávání

- Test je doporučen pro vzorky humánního séra (včetně zkumavek se separačním gelem).
- Nepoužívejte silně hemolyzované nebo zakalené vzorky.
- Pečlivě promíchejte rozmražené vzorky a opakovaně je nezmrazujte/nerozmrazujte.
- Vzorky mohou projít 3 cykly zmrazení a rozmrazení. Rozmražené vzorky se musí před testováním odstředit v centrifuze při $\geq 10\,000$ g po dobu 5 minut.
- Nevystavujte vzorky on-the clot nebo off-the clot vyšší než pokojové teplotě po dobu delší než přibližně noc (≤ 16 hodin).
- Vzorky on-the clot mohou být skladovány při teplotě 2–8 °C až 3 dny nebo off-the-clot vzorky až čtyři týdny; pro delší uchovávání vzorků se musí uchovávat off-the-clot vzorky při teplotě -20 °C až 6 měsíců.
- Před testováním přidejte ke každému vzorku stejné množství roztoku k předběžnému zpracování, např. 150 μ l vzorku plus 150 μ l roztoku k předběžnému zpracování. Předběžně zpracované vzorky se mohou před testováním uchovávat uzavřené až 24 hodin při teplotě 2–8 °C.



VÝSTRAHY A UPOZORNĚNÍ

Pouze k diagnostice in vitro. Bezpečnostní opatření

- Držte se striktně pokynů v této příručce, zejména v části manipulace a podmínky uchovávání.
- Nepipetujte ústy.
- Nekuřte, nepijte, nejezte ani neaplikujte kosmetické přípravky v prostorách, kde se manipuluje se vzorky a soupravami s činidly.
- Jakákoli poškození kůže, jako například oděrky, říznutí a další kožní léze je třeba vhodně ochránit.
- Kalibrátory, kontroly, konjugát, roztok k předběžnému zpracování a koncentrát promývacího pufru obsahují azid sodný, který může reagovat s olovem a měď v potrubí a vytvářet vysoce explozivní azidy kovů. Při likvidaci splachujte velkým množstvím vody, aby nedocházelo k usazeninám azidu.
- Neutralizační roztok obsahuje hydroxid sodný. Zamezte styku s kůží, očima a sliznicemi. V případě rozlití je třeba vytřít vydatným množstvím vody. Při zasažení kůže nebo očí okamžitě důkladně vypláchněte vodou a vyhledejte lékařskou pomoc.
- Bezpečnostní materiálové listy pro všechny nebezpečné komponenty obsažené v této soupravě jsou k dispozici na vyžádání ve společnosti Axis-Shield Diagnostics.

8. S tímto výrobkem se musí zacházet jako se vzorky a materiály lidského a živočišného původu. Doporučuje se, aby všechny lidské a zvířecí zdrojové materiály byly považovány za potenciálně infekční a aby se s nimi zacházelo v souladu se standardem OSHA, stupeň biologické ochrany 2, krevní patogeny nebo s jinými vhodnými postupy biologické ochrany při práci s materiály, které obsahují nebo se předpokládá, že obsahují infekční látky

Upozornění: Prodej tohoto přípravku je, na základě Federálního zákona, možný pouze lékařem nebo na lékařský předpis.

 Nebezpečí	Neutralizační roztok	<u>VAROVÁNÍ</u> H314 – <u>PREVENCE</u> P264 – P280 – <u>REAKCE</u> P305+351+338 -	<p>Způsobuje těžké poleptání kůže a poškození očí.</p> <p>Po manipulaci důkladně omyjte ruce. Používejte ochranné rukavice/ochranný oděv/ochranné brýle/obličejový štít.</p> <p>PŘI ZASAŽENÍ OČÍ: Několik minut opatrně vyplachujte vodou. Vyměte kontaktní čočky, jsou-li nasazeny a pokud je lze vyjmout snadno. Pokračujte ve vyplachování.</p>
 Varování	Substrát	<u>VAROVÁNÍ</u> H302 – H312 – H315 – H317 – H332 – <u>PREVENCE</u> P260 – P271 – P280 – <u>REAKCE</u> P301+310 – P304+340 – P312 -	<p>Zdraví škodlivý při požití. Zdraví škodlivý při styku s kůží. Dráždí kůži. Může vyvolat alergickou kožní reakci. Zdraví škodlivý při vdechování.</p> <p>Nevdechujte prach/dým/plyn/mlhu/páry/aerosoly. Používejte pouze venku nebo v dobře větraných prostorách. Používejte ochranné rukavice/ochranný oděv/ochranné brýle/obličejový štít.</p> <p>PŘI POŽITÍ: Okamžitě volejte TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÍ STŘEDISKO nebo lékaře. PŘI VDECHNUTÍ: Přeneste postiženého na čerstvý vzduch a ponechte jej v klidu v poloze usnadňující dýchání. Necítíte-li se dobře, volejte TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÍ STŘEDISKO nebo lékaře.</p>
	Promývací pufr	<u>VAROVÁNÍ</u> H302 – H412 – EUH032 – <u>REAKCE</u> P264 – P270 – P273 – <u>RESPONSE</u> P301+310 – P330 -	<p>Zdraví škodlivý při požití. Škodlivý pro vodní organismy, s dlouhodobými účinky. Uvolňuje vysoce toxický plyn při styku s kyselinami.</p> <p>Po manipulaci důkladně omyjte ruce. Při používání tohoto výrobku nejezte, nepijte ani nekuřte. Zabraňte uvolnění do životního prostředí.</p> <p>PŘI POŽITÍ: Okamžitě volejte TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÍ STŘEDISKO nebo lékaře. Vypláchněte ústa.</p>

PŘÍPRAVA

Potřebné materiály/vybavení, které se nedodává

1. Snímač 96jamkové destičky/stripu s filtrem 405 nm.
2. Přesné pipety k dávkování 100 µl. Dávkovač s 8 kanály, nebo podobný, k nadávkování přibližně 250–300 µl pro ruční promývání (například 8kanálový dávkovač StatMatic výrobce Tricontinent).
3. Skleněný/plastový odměrný válec: 1×200 ml.
4. Destilovaná/deionizovaná voda.
5. Papírové utěrky.
6. Časovač pro intervaly 30, 35 a 60 minut.

Příprava k testu

Před použitím nechejte všechny komponenty soupravy, včetně mikrotitrových stripů, zahřát na teplotu 18–25 °C po dobu 30–60 minut. Činidla jemným převrácením promíchejte. Při skladování promývacího pufru při 2–8 °C může docházet k jeho srážení (mohou být vidět krystalky). Před naředěním promývacího pufru vodou ho nechejte ohřát (pokud potřebujete proces ohřívání urychlit, vložte ho do inkubátoru při 37 °C), až pouhým okem nejsou viditelné **ŽÁDNÉ** sraženiny.

Následující činidlo naředte a řádně promíchejte.

Činidlo	Množství	Přidat
Koncentrát promývacího pufru x 8	1 lahvička	175 ml destilované/deionizované vody

Vypočítejte počet mikrotitrových stripů potřebných pro aktuální test a ponechte je v držáku mikrotitrových stripů. Zbytek stripů vraťte do fóliového, znovu uzavíratelného obalu s desikantem a uchovávejte až do dalšího použití při 2–8 °C. Zkontrolujte, zda všechny stripy jsou bezpečně uloženy v držáku mikrotitrových stripů. Uživatelé mohou každý strip na horním okraji očíslovat, aby se usnadnila identifikace. Ponechte si držáky mikrotitrových stripů pro budoucí použití.

Před testováním přidejte ke každému vzorku stejné množství roztoku k předběžnému zpracování, např. 150 µl vzorku plus 150 µl roztoku k předběžnému zpracování. Předběžně zpracované vzorky se mohou před testováním uchovávat uzavřené až 24 hodin při teplotě 2–8 °C.

PROTOKOL TESTU

1. Referenční jamky pro identifikaci.
2. Do správných jamek napipetujte 100 µl kalibrátorů dvojmo, kontroly ze soupravy, dvojmo a předem naředěné (50:50) patientské vzorky, dvojmo. Nezapomeňte před dalším přidáním vyměnit špičku pipety. Tento krok by neměl být delší než 15 minut.
3. Inkubujte 60±10 minut při teplotě 18–25 °C.
4. Obsah stripu slijte rychlým obrácením do vhodného umyvadla pro likvidaci biologických materiálů a mějte na paměti, že vzorky mohou být potencionálně infekční. Převrácené stripy dobře vysajte papírovými utěrkami. **Nepromývejte.**
5. Přidejte 100 µl konjugátu do každé jamky.
6. Inkubujte 35±5 minut při teplotě 18–25 °C.
7. Obsah stripu slijte rychlým obrácením do vhodného umyvadla pro likvidaci biologických materiálů. Převrácené stripy dobře vysajte papírovými utěrkami.
8. Jamky promyjte **pětkrát** minimálně 250 µl naředěného promývacího pufu. **Po každém promývacím kroku slijte a vysajte.**
9. Přidejte 100 µl substrátu do každé jamky.
10. Inkubujte 30±5 minut při teplotě 18–25 °C. **Neslívejte.**
11. Přidejte 100 µl neutralizačního roztoku do každé jamky, ve stejném pořadí a rychlosti jako jste přidávali substrát. K promísení lehce poklepejte na jamky.
12. Stripy odečtěte při 405 nm. Odečtěte do 120 minut po přidání neutralizačního roztoku.

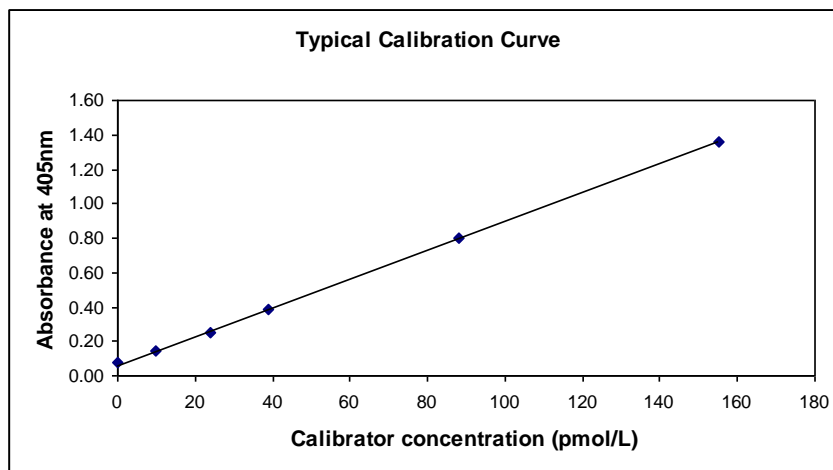
VÝPOČET A INTERPRETACE VÝSLEDKU

Sestrojte diagram průměrné hodnoty absorbance každého kalibrátoru vůči odpovídající koncentraci v pmol/L na ose x.

KONCENTRACE KALIBRÁTORU JSOU UVEDENY NA ŠTÍTKU AMPULKY. HODNOTY KONCENTRACE JSOU PŘIŘAZENY KE KAŽDÉ ŠARŽI A MOHOU SE MEZI ŠARŽEMI LIŠIT.

Koncentrace (pmol/L) každého vzorku lze vypočítat lokalizací místa na křivce, které odpovídá průměrné hodnotě absorbance vzorku a odečtu odpovídající koncentrace v pmol/L z osy x. Tento postup lze provést ručně pomocí milimetrového papíru nebo s snímače destiček se software zahrnujícím postupy vhodné pro křivky. Používáte-li snímač destiček s interním software, měl by se použít **algoritmus vhodný pro křivku lineární regrese**.

Typický graf kalibrační křivky je uveden pro referenční účely níže, k interpretaci výsledků se nesmí použít. Vzorky, s koncentrací nad 128 pmol/L jsou mimo rozsah testu, a musí se hlásit jako >128pmol/L a výsledky se nesmí extrapolovat. Repliky individuálních vzorků odchylující se o méně než 20 % mohou být považovány za indikátory přijatelnosti testu.



VÝSLEDKY

Jednotka měření

jednotkou měření pro test Axis-Shield Active-B12 (Holotranscobalamin) je pmol/L.

Interval měření (Hlásitelné rozmezí)

Hlásitelné rozmezí testu je 10 pmol/L až 128 pmol/L.

KONTROLA KVALITY

Zajistěte, aby se prováděla v souladu s pokyny výrobce adekvátní údržba a kalibrace snímače destičky a aby byla použita správná délka křivky (405 nm) a aby se použil vhodný algoritmus (lineární regrese).

Uživatelé musí zajistit plné obeznámení se s pokyny pro tento test, zejména s částmi Výstrahy a upozornění a Procedurální poznámky a zacházení se soupravou. Uživatelé musí před hlášením výsledků testu pacienta prokázat, že jsou schopni získat specifitu účinnosti pro přesné a hlásitelné rozmezí výsledků testu, srovnatelné s údaji stanovenými výrobcem. Kontroly (Low a High Kit Controls) připravené k okamžitému použití se musí zpracovávat dvojmo s každým testem, aby se dala sledovat kvalita postupu.

Za předpokladu, že jsou splněny všechny požadavky výrobce ohledně přesnosti, nesplnění specifikací rozmezí kontrol uvedených níže u jakékoli kontroly činí test neplatným a výsledky pacienta se nesmí hlásit. Operátor by měl po překontrolování postupu testování opakovat nebo kontaktovat distributora/výrobce. Jestliže test opakujete, připravte čerstvý roztok k ředění pro každý vzorek. Laboratoře mohou mít přání připojit vlastní kontroly ke každému testovacímu cyklu. Materiál pro kontroly uchovávejte při teplotě -20 °C nebo nižší a zabraňte tomu, aby byl opakovaně zmrazován/rozmrázován. Konzervační látky, například azid sodný v koncentraci <0,1 % (w/v) neovlivní výsledky vzorku.

Referenční rozsahy a příslušné body cut-off se musí vypočítávat pro specifické populace, pro které uživatelé test provádějí.

Specifikace kontrol

	Nízká koncentrace	Vysoká koncentrace
Specifikace (průměr duplikátu)	15 až 35 pmol/l	36 až 84 pmol/l

OČEKÁVANÉ HODNOTY

Pomocí testu Axis-Shield Active-B12 (Holotranscobalamin) EIA bylo testováno 135 vzorků séra od asymptomatických zdravých dárců ve věku 18–75 let, zhruba stejný počet mužů [n = 65] a žen [n = 70].

Celková průměrná koncentrace Active-B12 (Holotranscobalamin) u této populace byla 72 pmol/l (rozmezí 15 až 147 pmol/l).

Na základě těchto údajů referenční populace je referenční rozmezí (95 % výsledků):

Referenční rozmezí

21 – 123 pmol/l

Referenční rozmezí se uvádí pouze jako návod a každá laboratoř musí stanovit vlastní referenční rozmezí, které může být pro danou populaci unikátní, v závislosti na geografických, patientských, dietních, environmentálních faktorech nebo na klinické praxi.

ÚDAJE O ÚČINNOSTI

Reprezentativní údaje, výsledky v jednotlivých laboratořích se mohou lišit.

Linearita ředění

Na základě studie provedené podle dokumentu CLSI EP6-A¹⁰ prokázal test Axis-Shield Active-B12 (Holotranscobalamin) EIA linearitu od 5,3 až 156,0 pmol/L.

Správnost

Byla provedena studie korelace se vzorky séra od zdravých dárců. Všechny vzorky byly analyzovány použitím testu Axis-Shield Active-B12 (Holotranscobalamin) EIA a komerčně dostupného testu pro holotranscobalamin v souladu s dokumentem CLSI EP9-A2¹¹. Rozmezí koncentrací vzorků bylo 13,8 až 112,8 pmol/L. Získané údaje představují následující statistické hodnoty:

Test Axis-Shield Active-B12 (Holotranscobalamin) EIA oproti komerčně dostupnému testu*	
Počet vzorků	111
Úhel sklonu regresní křivky (postup regrese uveřejněný Passingem a Bablokem) (95% CI)	0,95 (0,89 až 1,01)
Průsečík s osou Y (postup regrese uveřejněný Passingem a Bablokem) (95% CI)	8,39 (5,73 až 11,77)
Koeficient korelace (r) (Pearson) (95% CI)	0,93 (0,90 až 0,95)

Přesnost

V Axis-Shield bylo testováno 7 vzorků humánního séra za použití 3 šarží činidel. Vzorky testovaly 2 technici v 8 replikách, jednou denně po dobu 5 dnů (celkem n=80). Údaje z této studie jsou sumarizovány v následující tabulce:

Vzorek	n	Šarže	Technik	Průměr (pmol/L)	V rámci testu %CV	Celkem %CV
1 A	80	1	1	17,8	7,5 %	8,2 %
			2	17,5	3,1 %	9,3 %
		2	1	20,1	6,0 %	6,6 %
			2	20,3	6,9 %	9,2 %
		3	1	19,1	5,5 %	8,0 %
			2	18,9	8,5 %	11,0 %
2 A	80	1	1	21,8	5,5 %	9,9 %
			2	21,8	3,9 %	7,5 %
		2	1	22,6	5,6 %	8,7 %
			2	23,5	9,0 %	10,3 %
		3	1	23,9	7,0 %	10,2 %
			2	23,2	5,8 %	8,9 %

3 A	80	1	1	28,8	3,8 %	7,8 %
			2	30,7	4,3 %	9,6 %
		2	1	31,0	6,8 %	8,0 %
			2	31,4	4,3 %	6,1 %
		3	1	31,5	4,5 %	6,4 %
			2	32,2	4,0 %	9,2 %
4 A	80	1	1	49,3	3,9 %	7,4 %
			2	52,6	4,1 %	6,7 %
		2	1	50,8	5,6 %	10,0 %
			2	51,7	4,7 %	5,9 %
		3	1	52,6	4,6 %	4,8 %
			2	55,0	5,5 %	6,1 %
5 A	80	1	1	68,4	4,0 %	7,6 %
			2	73,2	3,7 %	7,5 %
		2	1	74,8	4,3 %	8,2 %
			2	75,9	4,6 %	6,4 %
		3	1	75,1	4,4 %	7,9 %
			2	76,3	4,9 %	6,2 %
7 A	80	1	1	115,9	4,2 %	5,9 %
			2	121,1	3,6 %	7,0 %
		2	1	123,2	4,3 %	10,2 %
			2	124,0	4,2 %	6,4 %
		3	1	127,0	4,8 %	10,1 %
			2	129,5	3,2 %	5,6 %
Low Control	80	1	1	23,7	9,4 %	10,9 %
			2	23,8	5,1 %	11,5 %
		2	1	20,0	6,0 %	7,5 %
			2	18,6	5,8 %	8,5 %
		3	1	20,3	8,3 %	9,7 %
			2	20,1	8,3 %	10,0 %
High Control	80	1	1	61,2	6,3 %	6,4 %
			2	58,8	4,5 %	8,9 %
		2	1	50,3	6,3 %	8,1 %
			2	50,2	5,9 %	8,4 %
		3	1	52,2	7,7 %	9,2 %
			2	50,8	5,8 %	8,5 %

Limit blanku

V reprezentativní studii bylo stanovení limitu blanku provedeno za použití dvou vzorků s nízkou hladinou holotranskobalaminu a dvou šarží činidel (120 replik na šarži činidel). Limit blanku pro Axis-Shield Active-B12 (Holotranscobalamin) EIA byl prokázán jako 4,9 pmol/L (zaokrouhлено na 1 desetinné místo)

Limit detekce

V reprezentativní studii bylo stanovení limitu detekce provedeno za použití pěti vzorků s nízkou hladinou holotranskobalaminu a dvou šarží činidel (120 replik na šarži činidel). Limit detekce pro Axis-Shield Active-B12 (Holotranscobalamin) EIA byl prokázán jako 8,1 pmol/L (zaokrouhлено na 1 desetinné místo).

Kvantitativní limit

Kvantitativní limit byl stanoven za použití pěti vzorků s nízkou hladinou holotranskobalaminu a dvou šarží činidel (120 replik na šarži činidel). Kvantitativní I pro Axis-Shield Active-B12 (Holotranscobalamin) EIA byl prokázán jako 8,3 pmol/L. (zaokrouhлено na 1 desetinné místo).

Snížení signálu při měření (High Dose Hook)

High dose hook je jev, kdy může dojít k odečtu vzorků s velmi vysokou úrovní uvnitř dynamického rozsahu testu. Pro test Axis-Shield Active-B12 (Holotranscobalamin) EIA nebyl detekován žádný jev high dose hook analyzováním dvou vzorků s koncentracemi přibližně 419 a 2236 pmol/L..

Křížová reaktivita

Test Axis-Shield Active-B12 (Holotranscobalamin) EIA byl vyvinut s předpokládanou maximální odchylkou v koncentraci holotranskobalaminu $\leq 10\%$ za přítomnosti apotranskobalaminu nebo haptokorinu.

Byla provedena studie podle dokumentu EP7-A2¹² institutu Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Tři vzorky s hladinami holotranskobalaminu přes celé spektrum rozsahu testu byly nahrazeny 500 pmol/l apotranskobalaminu nebo 5000 pmol/l haptokorinu. Maximální odchylky koncentrace holotranskobalaminu pozorované v této studii byly v rozmezí od -5 % až 1 %.

Interference

Test Axis-Shield Active-B12 (Holotranscobalamin) EIA byl vyvinut s předpokládanou maximální odchylkou v koncentraci holotranskobalaminu $\leq 10\%$ za přítomnosti potenciale interferujících sloučenin.






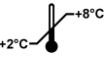

Byla provedena studie podle dokumentu EP7-A2¹² institutu Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Vzorky s hladinami holotranskobalaminu přes celé spektrum rozsahu testu byly nahrazeny potencionálně interferujícími sloučeninami uvedenými v tabulce níže. Maximální odchylky koncentrace holotranskobalaminu pozorované v této studii byly v rozmezí od -10 % až 8 %.

Potencionálně interferující látky	Nebyla prokázána interference až do následujících koncentrací
Haemoglobin	500 mg/dL
Bilirubin	30 mg/dL
Triglyceride (Intralipid Solution)	3000 mg/dL
Rheumatoid Factor	7500 IU/dL
Total Protein	9000 mg/dL

LITERATURA

1. Nexo E. Hvas A-M. Bleie Ø *et al.* Holo-transcobalamin is an early marker of changes in cobalamin homeostasis. A randomized placebo-controlled study. *Clin Chem* 2002;48(10):1768-71
2. Valente E. Scott JM. Ueland PM *et al.* Diagnostic accuracy of holotranscobalamin, methylmalonic acid, serum cobalamin, and other indicators of tissue vitamin B12 status in the elderly. *Clin Chem* 2011;57(6):856-863
3. Nexo E. Hoffmann-Lucke E. Holotranscobalamin, a marker of vitamin B12 status: analytical aspects and clinical utility. *Am J Clin Nutr* 2011;94(1):359S-365S
4. Obeid R. Jouma M. Hermann W. Cobalamin status (holotranscobalamin, methylmalonic acid) and folate as determinants of homocysteine concentration. *Clin Chem* 2002;48(11):2064-5
5. Herrmann W. Schorr H. Obeid R *et al.* Vitamin B12 status, particularly holotranscobalamin II and methylmalonic acid concentrations and hyperhomocysteinemia in vegetarians. *Am J Clin Nutr* 2003;78:131-6
6. Lloyd-Wright Z. Hvas A-M. Moller J *et al.* Holotranscobalamin as an indicator of dietary vitamin B12 deficiency. *Clin Chem* 2003;49(12):2076-8.
7. Refsum H. Yajnik CS. Gadkari M *et al.* Hyperhomocysteinemia and elevated methylmalonic acid indicate a high prevalence of cobalamin deficiency in Asian Indians. *Am J Clin Nutr* 2001;74:233-41
8. Refsum H. Smith AD. Low Vitamin B12 status in confirmed Alzheimer's disease as revealed by serum holotranscobalamin. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2003;74:959-61
9. Chen X. Remacha AF. Sarda MP *et al.* Influence of cobalamin deficiency compared with that of cobalamin absorption on serum holo-transcobalamin II. *Am J Clin Nutr* 2005;81:110-14
10. The National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). *Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach; Approved Guideline*. NCCLS document EP6-A. Wayne, PA: NCCLS; 2003.
11. The National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). *Method Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples; Approved Guideline—Second Edition*. NCCLS Document EP9-A2. Wayne, PA: NCCLS; 2002.
12. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). *Interference Testing in Clinical Chemistry; Approved Guideline—Second Edition*. CLSI document EP7-A2. Wayne, PA: CLSI; 2005.

KEY SYMBOLÖ

IVD	<i>In vitro</i> diagnostický zdravotnický prostředek	CONTROL L	Kontrola s nízkou hladinou
REF	Katalogové číslo	CONTROL H	Kontrola s vysokou hladinou
LOT	Šarže	CONJ	Konjugát
	96 testů	SUBS	Substrát
	Upozornění	SOLN STOP	Neutralizační roztok
	Seznamte se s pokyny k použití	PRE-TREATMENT	Roztok pro předběžné zpracování
	Chraňte před světlem	BUF WASH 8X	Promývací pufr
	Použit do	MTP 8 x 12	Mikrotitrové (odlomitelné) stripy
	Uchovávejte při 2–8 °C	CAL A - CAL F	Kalibrátory A až F
Rx Only	K použití pouze na lékařský předpis		Výrobce



Axis-Shield Diagnostics Ltd.,
The Technology Park,
Dundee,
DD2 1XA, UK
 Tel: +44 (0) 1382 422000
 Fax: +44 (0) 1382 422088
 e-mail: axd.axis-shield@alere.com
 Web: www.axis-shield.com



EC Authorized Representative:

Medical Device Safety Service GmbH
 (MDSS)
 Schiffgraben 41,
 30175 Hannover,
 Germany

Tel.: + (49) 511 6262 8630
 Fax: + (49) 511 6262 8633

Ver: 2019/09