


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

VAIN AMMATTIKÄYTTÖÖN

Lue korostetut muutokset, päivitetty 2
Syyskuu 2019

KÄYTTÖTARKOITUS

Axis-Shieldin aktiivisen B12-vitamiinin (holotranskobalamiini) määrittäminen on entsyymi-immunomääritys (EIA) holotranskobalamiinin (HoloTC) kvantitatiiviseen määrittämiseen ihmisen seerumista. HoloTC:tä (transkobalamiiniin sitoutunutta B₁₂-vitamiinia) käytetään apuna B₁₂-vitamiinipuutoksen diagnosoimisessa ja hoidossa.

JOHDANTO

B₁₂-vitamiinin kuljettamiseen elimistössä osallistuu kolme sijoitaproteiinia – sisäinen tekijä (IF), transkobalamiini (TC) ja haptokorriini (HC). Nämä sijoitaproteiinit varmistavat ruokavaliosta saatavan hyvin pienen B₁₂-vitamiinimäärän tehokkaan imeytymisen. Kun transkobalamiini (TC) ja haptokorriini (HC) sitovat B₁₂-vitamiinia, saatuja komplekseja kutsutaan holotranskobalamiiniksi (HoloTC) ja holohaptokorriiniksi (HoloHC). Näin ne voidaan erottaa proteiineista, jotka eivät kuljeta vitamiinia.

Suurin verenkierron oleva fraktio, HoloHC, edustaa 70–90 %:a veren B₁₂-vitamiinista, mutta se on biologisesti reagoimaton. HoloTC edustaa vain 10–30 %:a verenkierron kiertävästä B₁₂-vitamiinista, mutta se on ainoa B₁₂-vitamiinin muoto, jota elimistön solut voivat käyttää. Vain TC-proteiini kuljettaa B₁₂-vitamiinia imeytymispaikastaan sykkärsuoletta kudoksiin ja soluihin. Vitamiini siirtyy sitten suolen seinämien läpi HoloTC-kompleksina (B₁₂-vitamiinina, joka on sitoutunut transkobalamiiniin) tietyn reseptorivälitteisen mekanismin kautta. Tämä prosessi kuljettaa B₁₂-vitamiinia elimistön soluihin ja tuo vitamiinin koentsyyminä solun tärkeitä toimintoja, kuten DNA-synteesiä, varten.






Koska HoloTC:n puoliintumisaika verenkierron on lyhyempi kuin HoloHC:n, ensimmäinen muutos siirryttäessä negatiiviseen B₁₂-vitamiinin tasapainoon on hyvin todennäköisesti seerumin HoloTC-pitoisuuden lasku¹.



Seerumin B₁₂-vitamiinin kokonaispitoisuuden mittaamisessa on joitakin rajoituksia; erityisesti koska suurin osa mitatusta kobalamiinista on sitoutunut biologisesti reagoimattomaan HC:hen. On julkaistu useita tutkimuksia, joissa päätellään, että HoloTC olisi parempi B₁₂-vitamiinin tilan indikaattori kuin seerumin B₁₂-vitamiinin kokonaispitoisuus^{2,3}. Kuten on odotettavissa, HoloTC-pitoisuudet ovat matalia potilailla, joilla esiintyy biokemiallisia merkkejä B₁₂-vitamiinin puutoksesta⁴. Matalia arvoja on raportoitu kasvissyöjillä⁵, vegaaneilla⁶ ja ryhmillä, jotka nauttivat vain vähäisiä määriä B₁₂-vitamiinia⁷. Matalia HoloTC-pitoisuuksia, mutta ei matalia seerumin B₁₂-vitamiinin kokonaispitoisuuksia, raportoitiin eritoten Alzheimerin tautia sairastavilla potilailla verrattuna terveen kontrolliryhmän pitoisuuksiin⁸. HoloTC-pitoisuudet heijastavat B₁₂-vitamiinin tilaa huolimatta vitamiinin viimeaikaisesta imeytymisestä⁹.

MÄÄRITYKSEN PERIAATE

Mikrotitterikuopat päällystettiin erittäin spesifisellä monoklonalisella aktiivisen B12-vitamiinin (holotranskobalamiini) vasta-aineella. Ensimmäisen inkubaation aikana seerumin holotranskobalamiini sitoutuu spesifisesti vasta-aineella päällystettyyn pintaan. Toisen inkubaation aikana konjugaatti sitoutuu kaikkeen kiinni jääneeseen holotranskobalamiiniin. Tämän jälkeen sitoutumattomat komponentit poistetaan kuopista pesemällä. Sitoutunut holotranskobalamiini tunnistetaan inkuboinnalla substraattilla. Pysäytysliuoksen lisääminen lopettaa reaktion, jolloin tuloksena on värillinen lopputuote. Holotranskobalamiinin pitoisuus pmol/l liittyy suoraan syntyneeseen väriin ja voidaan arvioida interpoloimalla kalibraattoreihin perustuvasta annosvastekäyrästä.

TARVIKESARJAN KOMPONENTIT

CONJ	1 × 15 mL	Alkaliinifosfataasilla merkitty rotan monoklonaalinen vasta-aine ihmisen transkobalamiinille Tris-puskuriliuoksessa, jossa on proteiinin vakauttajaa. Säilytysaine: <0,1 % (w/v) natriumatsidia. Käyttövalmis.	
SUBS	1 × 15 mL	para-nitrofenyylifosfaatti (pNPP), puskuriliuos. Käyttövalmis. Säilytettävä valolta suojattuna. HUOMIO: VAROITUS	 
SOLN STOP	1 × 15 mL	1 M natriumhydroksidia, (pH >10). Käyttövalmis. HUOMIO: VAARA	 
BUF WASH 8X	2 × 25 mL	Fosfaattipuskuri. Säilytysaine: 0,72 % (w/v) natriumatsidi. Laimennettava ennen käyttöä. HUOMIO: VAROITUS	
MTP 8X12	12 × 8 kuopallista mikrotitteriliuoska (irrotettavia)	Päällystetty rotan monoklonalisella antiholotranskobalamiinin vasta-aineella, uudelleensuljettavassa foliopussissa, jossa on kuivausainetta.	

CAL A - CAL F	6 x 1.0 mL	Kalibraattori A on fosfaattipuskuriliuos, jossa on proteiinin (nautaperäistä) vakauttajaa. Säilytysaine: <0,1 % (w/v) natriumatsidia. Kalibraattorit B–F ovat fosfaattipuskuriliuoksia, joissa on HoloTC:tä sisältävää proteiinin (nautaperäistä) vakauttajaa. Säilytysaine: <0,1 % (w/v) natriumatsidi. Käyttövalmis. Säilytettävä valolta suojattuna. KATSO PITOISUUDET PULLOJEN ETIKETEISTÄ.	
CONTROL L CONTROL H	1 x 1.0 mL 1 x 1.0 mL	Fosfaattipuskuriliuos, jossa on HoloTC:tä sisältävää proteiinin (nautaperäistä) vakauttajaa. Säilytysaine: <0,1 % (w/v) natriumatsidi. Käyttövalmis. Säilytettävä valolta suojattuna.	
PRE-TREATMENT	1 x 25 mL	Sitraattipuskuriliuos. Säilytysaine: <0,1 % (w/v) natriumatsidi. Käyttövalmis.	

STANDARDISOINTI

Tällä hetkellä ei ole olemassa kansainvälisesti tunnustettua standardisoinnin viitemenetelmää tai viitemateriaalia. Axis-Shieldin aktiivisen B12-vitamiiniin (holotranskobalamiini) kalibraattorit ovat jäljitettävissä sisäisiin viitestandardeihin, joille on suoritettu kertaluontoinen arvomäärittely.

REAGENSSEN SÄILYTYS

Avatun tarvikesarjan säilyvyys

Tarvikesarja avattiin ja sitä käytettiin kolme kertaa uudelleen kolmen kuukauden aikana ilman tarvikesarjan suorituskyvyn heikkenemistä. Käytön jälkeen komponentit on palautettava säilytyslämpötilaan 2–8 °C.

Avaamattoman tarvikesarjan säilyvyys

Avaamattomat komponentit säilyvät lämpötilassa 2–8 °C etiketin tietojen mukaisesti.

Käsittelyä ja menetelmää koskevia huomautuksia

- Säilytä tarvikesarjan osat lämpötilassa 2–8 °C ja käytä, kunnes etiketeissä mainittu viimeinen käyttöpäivämäärä umpeutuu. Vanhentuneita reagensseja ei saa käyttää.
- Jokainen reagenssi- ja kalibraattorierä on standardoitu tuottamaan oikean reaktion. Reagensseja tai kalibraattoreita ei saa vaihtaa erien välillä.
- Kalibraattoripitoisuudet näkyvät pullojen etiketeissä ja voivat vaihdella erästä toiseen.
- Tarvikesarjoja ei saa jäädyttää.
- Konsentroitunut pesupuskuri on laimennettava ennen käyttöä. Kaikki muut reagenssit ovat käyttövalmiita.
- Laimennettu pesupuskuri on vakaa vähintään kolmen kuukauden ajan, jos mikrobikontaminaatio estetään. Palautettava säilytykseen lämpötilaan 2–8 °C käytön jälkeen.
- Ylimääräiset (käyttämättömät) mikrotitteriliuskat on asetettava takaisin foliopussiin, jossa on kuivausainetta. Varmista, että sinetti on suljettu ja palautettava säilytykseen lämpötilaan 2–8 °C, kunnes niitä tarvitaan.
- Suojaa kalibraattorit, kontrollit tai substraatti valolta säilytyksen aikana.
- Vältä reagenssien kontaminoitumista. Käytä uutta kertakäyttöistä pipetin kärkeä jokaista reagenssin tai näytteen manipulaatiota varten.

Hajoamisen merkit

Substraatin täytyy olla joko väritön tai hyvin heikosti keltainen. Tummempi keltainen väri on kontaminaation merkki ja tällöin reagenssi on hävitettävä. Minkä tahansa komponentin sameus tai sakkautuminen on hajoamisen merkki ja komponentti on hävitettävä.

Näytteen ottaminen ja säilytys

- Määrittystä suositellaan ihmisen seerumin (mukaan lukien seerumin erotusputkeen otetuille) näytteille.
- Älä käytä voimakkaasti hemolysoituneita tai sameita näytteitä.
- Sekoita sulatetut näytteet perusteellisesti ennen määrittystä ja vältä toistuvaa jäädyttämistä ja sulattamista.
- Näytteille voidaan suorittaa 3 pakastus-/sulatusjaksoa. Jäädytettyjä näytteitä on sentrifugoitava nopeudella $\geq 10\,000$ g viiden minuutin ajan ennen määrittystä.
- "On-the clot"- ja "Off-the clot"-näytteitä ei saa altistaa huonelämpötilaa korkeammalle lämpötilalle pidempään kuin seuraavaan päivään (≤ 16 tuntia).
- "On-the clot"-näytteitä voidaan säilyttää lämpötilassa 2–8 °C 3 vuorokautta ja "Off-the clot"-näytteitä neljä viikkoa. Pidempiaikaista säilytystä varten näytteitä on säilytettävä "Off-the-clot" lämpötilassa -20 °C enintään 6 kuukautta.
- Näytteet on valmistettava ennen määrittystä lisäämällä sama määrä esikäsittelyliuosta näytteeseen, kuten 150 μ l näytettä plus 150 μ l esikäsittelyliuosta. Esikäsittelyjä näytteitä voidaan säilyttää korkilla suljettuina enintään 24 tuntia lämpötilassa 2–8 °C ennen määrittystä.



VAROITUKSET JA VAROTOIMENPITEET

Vain *in vitro*-diagnostiikkaan. Varotoimenpiteet

- Noudata tämän kirjasen ohjeita tarkasti, erityisesti käsittely- ja säilytysohjeita.
- Suulla pipetointi on kielletty.
- Tupakointi, syöminen, juominen tai kosmeettisten aineiden käyttö on kielletty siellä, missä tarvikesarjoja ja näytteitä käsitellään.
- Kaikki ihovaivat, viillot, hiertymät ja muut iholeesiot on suojattava sopivalla tavalla.

5. Kalibraattorit, kontrollit, konjugaatti, esikäsitteilyliuos ja pesupuskuriliuoskonsentraatti sisältävät natriumatsidia, joka voi reagoida lyijy- tai kupariputkien kanssa ja muodostaa erittäin räjähdysalttiita metalliatsideja. Hävityksen yhteydessä atsidien kerääntyminen on estettävä huuhtelemalla aineet viemäriin suuren vesimäärän kera.
6. Pysäytysliuos sisältää natriumhydroksidia. Varottava kemikaalin joutumista iholle, silmiin ja limakalvoille. Jos kemikaalia läikky, läikkeit on pyyhittävä pois käyttäen runsaasti vettä. Roiskeet iholta tai silmiltä on huuhdeltava välittömästi vedellä ja mentävä lääkäriin.
7. Tämän tarvikesarjan sisältämillä kaikilla vaarallisilla komponenteilla on käyttöturvallisuustiedotteet, jotka ovat saatavilla pyynnöstä Axis-Shield Diagnostics -yhtiöltä.
8. Tämä tuote vaatii ihmis- ja eläinperäisten näytteiden ja materiaalien käsittelyä. Kaikkia ihmis- ja eläinperäisiä materiaaleja on suositeltavaa pitää tartuntavaarallisina ja käsitellä OSHA-standardin ”Verivälitteisten patogeenien bioturvallisuustaso 2” mukaisesti, tai muita asianmukaisia bioturvallisuuskäytäntöjä on käytettävä materiaaleille, jotka sisältävät tai joiden epäillään sisältävän tartuntavaarallisia aineita.

Varoitus: Liittovaltion lain mukaan tämän laitteen saa myydä tai vain lääkärin määräyksestä.

 Vaara	Pysäytysliuos	<p style="text-align: center;"><u>VAROITUS</u> H314 – <u>ENNALTAEHKÄISY</u> P264 – P280 – <u>VASTAUS</u> P305+351+338 -</p>	<p>Voimakkaasti ihoa syövyttävää ja silmiä vaurioittavaa.</p> <p>Pese käsissä huolellisesti käsittelyn jälkeen.</p> <p>Käytä suojakäsineitä/suojavaatetusta/silmiensuojainta /kasvonsuojainta.</p> <p>JOS KEMIKAALIA JOUTUU SILMIIN: Huuho huolellisesti vedellä usean minuutin ajan. Poista piilolinssit, edical voi tehdä helposti. Jatka huuhtomista.</p>
 Varoitus	Substraatti	<p style="text-align: center;"><u>VAROITUS</u> H302 – H312 – H332 – <u>ENNALTAEHKÄISY</u> P260 – P271 – P280 – <u>VASTAUS</u> P301+310 – P304+340 – P312 -</p>	<p>Haitallista nieltynä.</p> <p>Haitallista joutuessaan iholle.</p> <p>Haitallista hengitettynä.</p> <p>Älä hengitä pölyä/savua/kaasua/sumua/höyryä/suihketta.</p> <p>Käytä ainoastaan ulkona tai tiloissa, joissa on hyvä ilmanvaihto.</p> <p>Käytä suojakäsineitä/suojavaatetusta/silmiensuojainta /kasvonsuojainta.</p> <p>JOS KEMIKAALIA ON NIELTY: Ota välittömästi yhteys MYRKYTYSTIETOKESKUKSEEN tai lääkäriin.</p> <p>JOS KEMIKAALIA ON HENGITETTY: Siirrä henkilö raittiiseen ilmaan ja pidä lepoasennossa, jossa on helppo hengittää.</p> <p>Ota yhteys MYRKYTYSTIETOKESKUKSEEN tai lääkäriin, jos ilmenee pahoinvointia.</p>
	Pesupuskuri (8X)	<p style="text-align: center;"><u>VAROITUS</u> H302 – H412 – EUH032 – <u>ENNALTAEHKÄISY</u> P264 – P270 – P273 – <u>VASTAUS</u> P301+310 – P330 -</p>	<p>Haitallista nieltynä.</p> <p>Haitallista vesieliöille, pitkäaikaisia haittavaikutuksia.</p> <p>Kehittää erittäin myrkyllistä kaasua hapon kanssa.</p> <p>Pese käsissä huolellisesti käsittelyn jälkeen.</p> <p>Syöminen, juominen ja tupakointi kielletty kemikaalia käytettäessä.</p> <p>Vältettävä päästämistä ympäristöön.</p> <p>JOS KEMIKAALIA ON NIELTY: Ota välittömästi yhteys MYRKYTYSTIETOKESKUKSEEN tai lääkäriin.</p> <p>Huuho suu.</p>

ESITYÖT

Tarvittavat materiaalit/laitteisto, jotka eivät tule pakkauksen mukana

1. 96-kuoppalevy/liuskan lukija, jossa on 405 nm:n suodatin.
2. Tarkkuuspipetit, joilla voi annostella 100 µl. 8-kanavainen annostelulaite tai samantapainen noin 250–300 µl:n annosteluun manuaalista pesua varten (esimerkiksi StatMatic 8-kanavainen annostelulaite Tricontinentilta).
3. Lasinen/muovinen mittasylinteri 1 x 200 ml.
4. Tislattua/deionisoitua vettä.
5. Paperipyyhkeitä.
6. Ajastin 30, 35 ja 60 minuutin väliajoille.

Määrittelyn valmistelu

Anna kaikkien tarvikesarjan osien, mikrotiiterilevyn liuskat mukaan lukien, lämmetä 18–25 °C:n lämpötilaan 30–60 minuuttia ennen käyttöä. Sekoita reagenssit kääntämällä niitä varovasti ylösalaisin.

Säilytettäessä pesupuskuria lämpötilassa 2–8 °C se saostuu (kiteitä voi näkyä). Ennen laimennusta vedellä pesupuskurin on annettava lämmetä (voidaan asettaa inkubaattoriin 37 °C:een tarvittaessa, jos prosessia halutaan nopeuttaa), kunnes saostumia **EI** näy paljaalla silmällä.

Laimenna seuraava reagenssi ja sekoita perusteellisesti:

Reagenssi	Tilavuus	Lisää
Konsentroitua pesupuskuria x 8	1 pullo	175 ml tislattua/deionisoitua vettä

Laske, kuinka monta mikrotiiterilevyn liuskaa tarvitaan kyseiseen määrittelyyn ja pidä nämä mikrotiiteriliuskoille tarkoitettu kehys. Palauta ylimääräiset liuskat uudelleensuljettavaan foliopussiin, jossa on kuivausainetta, ja säilytä ne lämpötilassa 2–8 °C seuraavaa käyttökertaa varten. Varmista, että kaikki liuskat ovat tukevasti kiinni mikrotiiteriliuskoille tarkoitettu kehys. Käyttäjät haluavat kenties numeroida jokaisen liuskan yläreunan helpottamaan tunnistamista. Säilytä mikrotiiteriliuskoille tarkoitettu kehys myöhempää käyttöä varten.

Näytteet on valmistettava ennen määrittelyä lisäämällä sama määrä esikäsittelyliuosta näytteeseen, kuten 150 µl näytettä plus 150 µl esikäsittelyliuosta. Esikäsiteltyjä näytteitä voidaan säilyttää korkilla suljettuina enintään 24 tuntia lämpötilassa 2–8 °C ennen määrittelyä.

MÄÄRITYSPROTOKOLLA

1. Merkitse muistiin kuoppien tunnukset.
2. Pipetoi 100 µl kalibraattoreita kahtena rinnakkaisena, tarvikesarjan kontrollit kahtena rinnakkaisena ja esikäsitellyt (50:50) potilasnäytteet kahtena rinnakkaisena asianmukaisesti kuoppiin. Muista vaihtaa pipetinkärkeä lisäysten välillä. Tämän vaiheen pitäisi kestää korkeintaan 15 minuuttia.
3. Inkuboi 60 ± 10 minuuttia lämpötilassa 18–25 °C.
4. Kaada liuskojen sisältö pois kääntämällä ne nopeasti ylösalaisin biologisten materiaalien hävittämiselle soveltuvan kaatoaltaan yläpuolella, pitäen mielessä, että näytteet ovat mahdollisesti tartuntavaarallisia. Taputtele ylösalaisin olevia liuskoja hyvin paperipyyhkeitä vasten. **Ei saa pestä.**
5. Lisää 100 µl konjugaattia kuhunkin kuoppaan.
6. Inkuboi 35 ± 5 minuuttia lämpötilassa 18–25 °C.
7. Kaada liuskojen sisältö pois kääntämällä ne nopeasti ylösalaisin biologisten materiaalien hävittämiselle soveltuvan kaatoaltaan yläpuolella. Taputtele ylösalaisin olevia liuskoja hyvin paperipyyhkeitä vasten.
8. Pese kuopat **viisi kertaa** vähintään 250 µl:lla laimennettua pesupuskuria. **Kaada neste pois ja taputtele liuskoja paperipyyhkeitä vasten jokaisen pesuvaiheen jälkeen.**
9. Lisää 100 µl substraattia kuhunkin kuoppaan.
10. Inkuboi 30 ± 5 minuuttia lämpötilassa 18–25 °C. **Älä kaada pois.**
11. Lisää 100 µl pysäytysliuosta jokaiseen kuoppaan, samassa järjestyksessä ja samalla nopeudella kuin lisäsit substraatin. Sekoita napauttamalla kuoppia varovasti.
12. Lue liuskat aallonpituudella 405 nm. Lue 120 minuutin sisällä pysäytysliuoksen lisäämisestä.

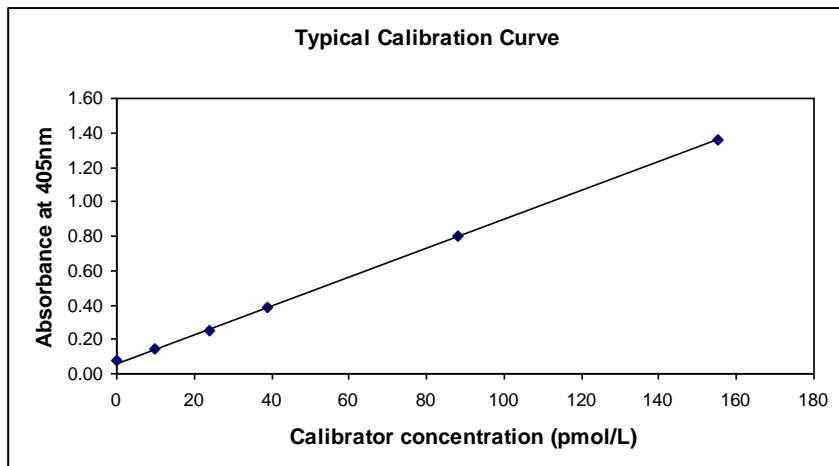
TULOSTEN LASKENTA JA TULKINTA

Merkitse jokaisen kalibraattorin keskimääräinen absorbanssiarvo Y-akselille ja vastaava pitoisuus yksikkönä pmol/l Y-akselille.

KALIBRAATTORIPITOISUUDET NÄKYVÄT PULLOJEN ETIKETEISSÄ. PITOISUUSARVOT MÄÄRITETÄÄN KALIBRAATTORIERÄKOHTAISESTI JA NE VOIVAT VAIHDELLÄ ERIEN VÄLILLÄ.

Jokaisen näytteen pitoisuus (pmol/l) voidaan laskea hakemalla piste käyrällä, joka vastaa näytteen absorbanssin keskiarvoa ja lukemalla vastaava pitoisuus yksikkönä pmol/l X-akselilla. Tämä toimenpide voidaan suorittaa käsin käyttäen kaaviopaperia tai käyttäen levynlukijaa ohjelmistoavusteisilla käyränsovitustoimenpiteillä. Jos käytetään levynlukijaa, jossa on sisäinen ohjelmisto, on käytettävä **lineaarista regressiokäyrän sovitusalgoritmia**.

Alhaalla esitetään tyypillinen kalibrintikaavio viitekäyttöön. Sitä ei saa käyttää tulosten tulkintaan. Näytteet, joiden pitoisuus on yli 128 pmol/l, ovat määrittelyn alueen ulkopuolella, ja ne on rekisteröitävä >128pmol/l. Tuloksia ei saa ekstrapoloida. Yksittäiset näytteiden replikaatit, joiden poikkeama on alle 20 %, voidaan ottaa osoittamaan määrittelyn hyväksyttävyyttä.



TULOKSET

Mittayksikkö

Axis-Shieldin aktiivisen B12-vitamiinin (holotranskobalamiini) määrittymisen mittayksikkö on pmol/l.

Mittausväli (raportoitava alue)

Määrittymisen mittausväli on 10 pmol/l – 128 pmol/l.

LAADUNVALVONTA

Varmista, että levynlukija huolletaan ja kalibroidaan asianmukaisesti valmistajan ohjeiden mukaisesti ja että käytetään oikeaa aallonpituutta (405 nm) ja käyränsovitusalgoritmia (lineaarinen regressio).

Käyttäjien on varmistettava, että he tuntevat täysin määrittymisen ohjeet, erityisesti kohdan Varoitukset ja varotoimet, ja käsittelyä ja toimenpiteitä koskevat huomautukset. Käyttäjien on osoitettava, että he saavat testituloksia, jotka ovat tarkkuudeltaan ja raportoitavalta alueeltaan vertailukelpoisia valmistajan tulosten kanssa, ennen kuin he raportoivat potilaiden testituloksia. Käyttövalmiit matalat ja korkeat kontrollit on ajettava kahtena rinnakkaisena kaikissa näytteissä testimenetelmän laadun seuraamista varten.

Olettaen, että valmistajan kuvaamat tarkkuusspesifikaatiot saavutetaan, jos tällöin mikä tahansa kontrolli ei täytä alla annettuja kontrollin suhdessesifikaatioita, määrittymis on epäkelpo ja potilastuloksia ei saa raportoida. Käyttäjä voi toistaa määrittymisen tarkistettuaan menetelmän, tai ottaa yhteyttä jälleenmyyjään tai valmistajaan. Jos määrittymis toistetaan, valmistaja jokaiselle näytteelle uusi laimennus. Laboratoriot voivat halutessaan lisätä mukaan omia kontrollejaan jokaiseen määrittymisajoon. Säilytä sellainen kontrollimateriaali $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$:n lämpötilassa tai tätä kylmemmässä ja vältä toistuvia jäätymis-/sulamissyklejä. Säilöntäaineet, kuten $<0,1$ -prosenttinen natriumatsidi (w/v), eivät vaikuta näytetuloksiin.

Referenssialueet ja asianmukaiset raja-arvot on kaikki laskettava spesifisille populaatioille, joita käyttäjät palvelevat.

Kontrollien spesifikaatiot

	Matala	Korkea
Spesifikaatio (toistojen keskiarvo)	15–35 pmol/l	36–84 pmol/l

ODOTETUT ARVOT

135 seeruminäytettä oireettomilta, ilmeisen terveiltä 18–75-vuotiailta luovuttajilta, kun näytteissä oli noin yhtä suuret määrät miesten [n = 65] ja naisten [n = 70] näytteitä, testattiin Axis-Shieldin aktiivisen B12-vitamiinin (holotranskobalamiini) entsyymi-immunomäärityksellä.

Keskimääräinen aktiivisen B12-vitamiinin (holotranskobalamiini) pitoisuus tässä populaatiossa oli 72 pmol/l (vaihteluväli 15–147 pmol/l).

Tämän referenssipopulaation tietojen perusteella ehdotetaan seuraavaa referenssialuetta (tuloksista keskimmäiset 95 %):

Referenssialue

21–123 pmol/l

Tätä referenssialuetta ehdotetaan vain suosituksena ja jokaisen laboratorion on asetettava referenssialue, joka voi olla väestöryhmäkohtainen maantieteellisten, potilaaseen liittyvien, ruokavalioon liittyvien tai ympäristöön liittyvien tekijöiden tai kliinisen käytännön mukaan.

SUORITUSKYKYTIETOJA

Edustavat tiedot; tulokset yksittäisissä laboratorioissa saattavat vaihdella.

Laimennuksen lineaarisuus

Perustuen tutkimukseen, joka suoritettiin CLSI-asiakirjan EP6-A suositusten mukaisesti,¹⁰ Axis-Shieldin aktiivisen B12-vitamiinin (holotranskobalamiini) entsyymi-immunomääritys osoittautui lineaariseksi välillä 5,3–156,0 pmol/l.

Tarkkuus

Korrelaatiotutkimus suoritettiin ilmeisen terveiden aikuisten seeruminäytteille. Kaikki näytteet analysoitiin Axis-Shieldin aktiivisen B12-vitamiinin (holotranskobalamiini) entsyymi-immunomäärityksellä ja kaupallisesti saatavalla holotranskobalamiinimäärityksellä CLSI-asiakirjan EP9-A2 mukaisesti¹¹. Näytepitoisuudet vaihtelivat välillä 13,8–112,8 pmol/l. Saadut tiedot antoivat seuraavat tilastolliset arvot:

Axis-Shieldin aktiivisen B12-vitamiinin (holotranskobalamiini) entsyymi-immunomääritys verrattuna kaupallisesti saatavilla olevaan määrittymiseen	
Näytteiden lukumäärä	111
Regressiosuoran kulmakerroin (Passing-Bablok-regressio) (95 % CI)	0,95 (0,89–1,01)
Y-poikkileikkauspiste (Passing-Bablok-regressio) (95 % CI)	8,39 (5,73–11,77)
Korrelaatiokerroin (r) (Pearson) (95 % CI)	0,93 (0,90–0,95)

Tarkkuus

7 ihmisen seeruminäytettä analysoitiin Axis-Shieldillä käyttäen 3 reagenssierää. 2 käyttäjää analysoi näytteet 8:n replikaateissa, kerran vuorokaudessa 5 vuorokauden ajan (yhteensä n=80). Seuraava taulukko sisältää yhteenvedon tämän tutkimuksen tiedoista:

Näyte	n	Erä	Käyttäjä	Keskiarvo (pmol/L)	Määrittymisen aikainen % CV	Yhteensä % 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 %
Matala kontrolli	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 %
Korkea kontrolli	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 %

Nolla-arvon raja

Representatiivisessa tutkimuksessa nolla-arvon rajan määrittämiseen käytettiin kahta matalatasoista holotranskobalamiininäytettä ja kahta reagenssierää (120 replikaattia kussakin reagenssierässä). Axis-Shieldin aktiivisen B12-vitamiinin (holotranskobalamiini) EIA:n nolla-arvon rajan todettiin olevan 4,9 pmol/l (pyöristettynä 1 desimaaliin).

Detekointiraja

Representatiivisessa tutkimuksessa detekointirajan määrittämiseen käytettiin viittä matalatasoista holotranskobalamiininäytettä ja kahta reagenssierää (120 replikaattia kussakin reagenssierässä). Axis-Shieldin aktiivisen B12-vitamiinin (holotranskobalamiini) EIA:n detekointirajan todettiin olevan 8,1 pmol/l (pyöristettynä 1 desimaaliin).

Kvantifioinnin / funktionaalisen herkkyyden raja

Kvantifioinnin rajan määrittämiseen käytettiin viittä matalatasoista holotranskobalamiininäytettä ja kahta reagenssierää (120 replikaattia kussakin reagenssierässä). Axis-Shieldin aktiivisen B12-vitamiinin (holotranskobalamiini) EIA:n kvantifiointirajan todettiin olevan 8,3 pmol/l (pyöristettynä 1 desimaaliin).

Korkean tason koukku ("high dose hook")

Axis-Shieldin aktiivisen B12-vitamiinin (holotranskobalamiini) EIA:lle ei todettu korkean tason koukun vaikutusta kahdella näytteellä pitoisuuden ollessa noin 419 ja 2 236 pmol/l.

Edustavia tuloksia; yksittäisten laboratorioiden tulokset voivat olla erilaisia kuin nämä tulokset.

Ristireaktiivisuus

Axis-Shieldin aktiivisen B12-vitamiinin (holotranskobalamiini) entsyymi-immunomääritys on suunniteltu sisältämään enintään $\leq 10\%$:n keskihajonta holotranskobalamiinipitoisuudessa, kun näytteessä esiintyy apotranskobalamiinia tai haptokorriinia.

Tutkimus suoritettiin Clinical and Laboratory Standards -instituutin (CLSI) asiakirjan EP7-A212 suositusten mukaisesti. Kolmeen näytteeseen, joissa oli holotranskobalamiinipitoisuuksia määritysalueella, lisättiin 500 pmol/l apotranskobalamiinia tai 5000 pmol/l haptokorriinia. Suurin holotranskobalamiinipitoisuuden keskihajonta oli $-5...1\%$.

Interferenssi

Axis-Shieldin aktiivisen B12-vitamiinin (holotranskobalamiini) entsyymi-immunomääritys on suunniteltu sisältämään enintään $\leq 10\%$:n keskihajonta holotranskobalamiinipitoisuudessa, kun näytteessä esiintyy mahdollisesti häiritseviä yhdisteitä.
















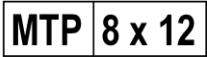
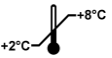


Tutkimus suoritettiin Axis-Shield Clinical and Laboratory Standards -instituutin (CLSI) asiakirjan EP7-A212 suositusten mukaisesti. Näytteisiin, joiden holotranskobalamiinipitoisuudet olivat määritysalueella, lisättiin mahdollisesti häiritseviä yhdisteitä, jotka on lueteltu alla olevassa taulukossa. Näytteissä havaittujen holotranskobalamiinipitoisuuden enimmäiskeskihajonta oli $-10...8\%$.

Mahdollinen häiritsevä aine	Ei interferenssiä havaittu seuraavaan pitoisuuteen saakka
Hemoglobiini	500 mg/dL
Bilirubiini	30 mg/dL
Triglyseridi (lipidinsisäinen liuos)	3000 mg/dL
Reumatekijä	7500 IU/dL
Kokonaisproteiini	9000 mg/dL

VIITTEET

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.

MERKKIEN

	<i>In vitro</i> diagnostinen lääketieteellinen laite		Matala kontrolli
	Luettelonumero		Korkea kontrolli
	Erä		Konjugaatti
	96 testiä		Substraatti
	Huomio		Pysäytysliuos
	Katso käyttöohjeet		Esikäsitteily
	Suojattava valolta		Pesupuskuri
	Käytettävä ennen		Mikrotiitteriliuskat (irrotettavia)
	Säilytä 2–8 °C:n lämpötilassa		Kalibraattorit A–F
Rx Only	Käyttö vain lääkärin määräyksestä		Valmistaja



**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