


 AXIS-SHIELD <small>Innovation for Life</small>	Axis-Shield Active-B12 (Holotranscobalamin) EIA			 	sk
	REF FMABT100				

LEN PRE PROFESIONÁLNE ÚČELY

Prečítajte si zvýraznené zmeny revidované v septembri 2019

URČENÉ POUŽITIE

Analýza Axis-Shield Active-B12 (Holotranscobalamin) je enzymatická immunoassay (EIA) na kvantitatívne určenie holotranskobalamínu (HoloTC) v ľudskom sére. HoloTC (vitamín B₁₂ viazaný na kobalamín) sa používa ako podpora v diagnostike a liečbe nedostatku vitamínu B₁₂.

ÚVOD

Na preprave vitamínu B₁₂ v organizme sa podieľajú tri väzobné proteíny: vnútorný faktor (= intrinsic factor - IF), transkobalamín (= transcobalamín - TC) a haptokorín (= haptocorrin - HC). Tieto väzobné proteíny zabezpečujú efektívne uchopenie veľmi malých množstiev vitamínu B₁₂ dostupného v strave. Keď TC a HC viažu vitamín B₁₂, výsledné komplexy sú známe pod názvom holotranskobalamín (= HoloTC) a holohaptokorín (= HoloHC), aby boli odlíšené od proteínov, ktoré nedopravujú žiaden vitamín. Najväčší podiel na obehu - HoloHC predstavuje 70-90 % vitamínu B₁₂ v krvi, no biologicky je inertný. HoloTC predstavuje len 10-30 % vitamínu B₁₂, cirkulujúceho v krvi, no je to jediná forma vitamínu B₁₂, ktorú sú schopné prijať bunky v organizme. TC proteín sám dopravuje vitamín B₁₂ z miesta jeho absorpcie v ileu do tkanív a buniek. Potom je vitamín internalizovaný ako komplex HoloTC (vitamín B₁₂ naviazaný na transkobalamín) cez príjem sprostredkovaný špecifickými receptormi. Tento proces dodáva vitamín B₁₂ do buniek organizmu a zabezpečuje vitamín ako koenzým pre podstatné bunkové funkcie, ako je syntéza DNA.






Keďže HoloTC má v porovnaní s HoloHC kratší obehový polčas, najskoršia zmena, ktorá sa vyskytne pri nástupe zápornej rovnováhy vitamínu B₁₂, je s veľkou pravdepodobnosťou zníženie sérovej koncentrácie HoloTC¹.


Meranie celkového obsahu B₁₂ v sére trpí istými obmedzeniami; predovšetkým väčšia časť meraného kobalamínu je viazaná na biologicky inertný HC. Bolo publikovaných niekoľko štúdií, ktoré usudzujú, že HoloTC by bol lepším indikátorom stavu vitamínu B₁₂, ako celkový obsah B₁₂^{2,3} v sére. Predpokladá sa, že hladiny HoloTC sú u pacientov s biochemickými príznakmi nedostatku vitamínu B₁₂ nízke⁴. Nízke hodnoty boli zaznamenané u vegetariánov⁵, vegánov⁶ a v populáciách s nízkym príjmom vitamínu B₁₂⁷. Je pozoruhodné, že nízke hladiny HoloTC, ale nie celkového B₁₂ v sére, boli zaznamenané u pacientov s Alzheimerovou chorobou v porovnaní s hladinami u zdravej kontrolnej skupiny⁸. Hladiny HoloTC odrážajú stav vitamínu B₁₂ nezávisle od poslednej absorpcie vitamínu⁹.

PRINCÍP TESTU

Mikrotitračné jamky sú potiahnuté vysoko špecifickou protilátkou proti aktívnemu B12 (Holotranscobalamin). Počas prvej inkubácie holotranskobalamín v sére sa špecificky naviaže na povrch potiahnutý protilátkou. Pri druhej inkubácii sa konjugát viaže na akýkoľvek zachytený holotranskobalamín. Jamky sa potom opláchnu, aby sa odstránili nenaviazané zložky. Naviazaný holotranskobalamín je detegovaný inkubáciou so substrátom. Pridanie zastavovacieho roztoku (stop roztoku) ukončí reakciu, ktorej výsledkom je sfarbený konečný produkt. Koncentrácia holotranskobalamínu v pmol/L je priamo úmerná vygenerovanému sfarbeniu a dá sa stanoviť interpoláciou krivky dávka-reakcia založenej na kalibrátoroch.

SÚČASTI SÚPRAVY

CONJ	1 x 15 mL	Alkalickou fosfatázou označená myšacia monoklonálna protilátka proti ľudskému transkobalamínu v pufrí Tris s proteínovým stabilizátorom. Konzervačný prostriedok < 0,1 % (w/v) azid sodný. Pripravený na priame použitie.	
SUBS	1 x 15 mL	para-niotrofenylfosfát (pNPP), pufovaný roztok. Pripravený na priame použitie. Nevystavujte svetlu počas skladovania. POZOR! VAROVANIE	 
SOLN STOP	1 x 15 mL	1M hydroxid sodný, (pH >10). Pripravený na priame použitie. POZOR! NEBEZPEČENSTVO	
BUF WASH 8X	2 x 25 mL	Fosfátový pufo. Konzervačný prostriedok < 0,72 % (w/v) azid sodný. Nariediť pred použitím. POZOR! VAROVANIE	
MTP 8X12	12 x 8 mikrotitračných (odlomiteľných) prúžkov	Potiahnuté myšacou monoklonálnou protilátkou proti holotranskobalamínu v zнову zalepiteľnej obalovej fólii s desikantom.	
CAL A - CAL F	6 x 1.0 mL	Cal A je fosfátový ústojný roztok s proteínovým (bovinným) stabilizátorom. Konzervačný prostriedok < 0,1 % (w/v) azid sodný. Cals B-F je fosfátový ústojný roztok s proteínovým (bovinným) stabilizátorom obsahujúcim HoloTC. Konzervačný prostriedok < 0,1 % (w/v) azid sodný. Pripravený na priame použitie. Nevystavujte svetlu počas skladovania. POZRI KONCENTRÁCIE NA ŠTÍTKOCH LIEKOVIEK.	

CONTROL L	1 × 1.0 mL	Fosfátový ústojný roztok s proteínovým (bovinným) stabilizátorom obsahujúcim HoloTC. Konzervačný prostriedok < 0,1 % (w/v) azid sodný. Pripravený na priame použitie. Nevystavujte svetlu počas skladovania.	
CONTROL H	1 × 1.0 mL		
PRE-TREATMENT	1 × 25 mL	Citrátový pufo. Konzervačný prostriedok < 0,1 % (w/v) azid sodný. Pripravený na priame použitie.	

ŠTANDARDIZÁCIA

V súčasnosti neexistuje žiadna medzinárodne uznávaná referenčná metóda alebo referenčný materiál pre štandardizáciu. Kalibrátory testu Axis-Shield Active-B12 (holotranscobalamin) je možné vysledovať až k interným referenčným štandardom, ktoré sa podrobili priradeniu jednorazovej hodnoty.

USKLADNENIE ČINIDIEL

Stabilita otvorenej súpravy

Súprava bola otvorená a opakovane použitá pri troch príležitostiach v priebehu troch mesiacov bez akýchkoľvek nežiaducich účinkov na jej výkonnosť. Po použití sa komponenty musia vrátiť a skladovať pri teplote 2-8 °C.

Stabilita neotvorenej súpravy

Komponenty neotvorenej súpravy sú stabilné pri teplote 2-8 °C do dátumu vyznačeného na štítkoch.

Poznámky k manipulácii a postupu

1. Zložky súpravy skladujte pri 2–8 °C a používajte až do uplynutia dátumu expirácie vyznačeného na štítkoch. Nepoužívajte expirované činidlá.
2. Každá šarža činidiel a kalibrátorov bola štandardizovaná, aby vyprodukovala správnu reakciu. Nevymieňajte činidlá alebo kalibrátory medzi šaržami.
3. Koncentrácie kalibrátora sú uvedené na štítkoch liekoviek a môžu sa líšiť medzi šaržami.
4. Súpravy nezmrazujte.
5. Premývací pufrovaný koncentrát sa musí pred použitím zriediť. Všetky ostatné činidlá sú pripravené na použitie.
6. Zriedený premývací pufo je stabilný najmenej 3 mesiace, ak sa zabráni mikrobiálnej kontaminácii. Po každom použití uskladnite opäť pri teplote 2-8 °C.
7. Prebytočné (nepoužitú) mikrotitračné prúžky vráťte do obalovej fólie s desikantom. Presvedčte sa, či je uzáver neporušený a vráťte ich do 2–8 °C až pokiaľ ich znovu nepotrebujete.
8. Nevystavujte kalibrátory, kontrolné roztoky alebo substrát svetlu počas skladovania.
9. Vyvarujte sa kontaminácie činidiel. Pri každej manipulácii s činidlom alebo vzorkou použite nový jednorazový hrot pipety.

Indikácie zhoršenia kvality

Substrát musí byť bezfarebný, až bledožltý sfarbený. Tmavšie žlté sfarbenie indikuje kontamináciu a činidlo sa musí zlikvidovať. Zákal alebo vyvrážanie v ktorejkoľvek zložke indikuje rozklad a taká zložka sa musí znehodnotiť.

Zber a skladovanie vzoriek

1. Analýza sa odporúča pre testovanie ľudského séra (včítane skúmaviek na separáciu séra – SST).
2. Nepoužívajte makroskopicky hemolyzované alebo zakalené vzorky.
3. Rozmrazené vzorky pred analýzou dôkladne premiešajte a vyvarujte sa opakovaného zmrazenia a rozmrazenia.
4. Vzorky môžu prejsť 3 cyklami zmrazenia. Pred testovaním sa musia rozmrazené vzorky centrifugovať po dobu 5 minút pri g ≥10 000.
5. Vzorky obsahujúce zrazeniny alebo bez nich nevystavujte teplote vyššej než izbovej po dobu dlhšiu než cez noc (≤ 16 hodín).
6. Vzorky obsahujúce zrazeniny možno skladovať pri teplote 2-8°C až 3 dni, resp. štyri týždne vzorky neobsahujúce zrazeniny; pre dlhšie skladovanie musia byť vzorky skladované bez zrazenín pri teplote -20 °C až po dobu 6 mesiacov.
7. Každú vzorku pripravte pred testom pridaním rovnakého množstva Pre-Treatment to Sample (Predpríprava vzorky), napr. 150 µL vzorky plus 150 µL činidla Pre-Treatment. Predprípravené vzorky sa môžu pred testom skladovať 24 h pri teplote 2-8 °C.



UPOZORNENIA A BEZPEČNOSTNÉ OPATRENIA

Určené len na použitie pri *in vitro* diagnostike. **Bezpečnostné opatrenia**

1. Dodržujte dôsledne všetky pokyny uvedené v tejto brožúrke, najmä pri manipulácii a podmienkach skladovania.
2. Nepipetujte ústami.
3. V priestoroch, v ktorých sa manipuluje so súpravami a vzorkami, nefajčite, nejedzte, nepite, ani nepoužívajte kozmetiku.
4. Všetky kožné neduhy, rezy, odreniny a iné kožné lézie musia byť primerane chránené.
5. Kalibrátory, kontroly, konjugáty, Pre-Treatment a premývacie pufrované koncentráty obsahujú azid sodný, ktorý v odpadovom potrubí môže reagovať s olovom alebo meďou a vytvárať vysoko výbušné azidy týchto kovov. Pri likvidácii splachujte veľkým množstvom vody, aby ste zabránili hromadeniu azidov.
6. Zastavovací roztok obsahuje hydroxid sodný. Vyhnite sa kontaktu činidla s pokožkou a očami. Rozliata tekutina sa musí utrieť handrou namočenou vo veľkom množstve vody. V prípade kontaktu s kožou alebo očami okamžite vypláchnite veľkým množstvom vody a vyhľadajte lekársku pomoc.
7. Karty bezpečnostných údajov o všetkých nebezpečných zložkách v tejto súprave vám na vyžiadanie poskytnú Axis-Shield Diagnostics.

8. Tento produkt vyžaduje manipuláciu so vzorkami a materiálmi ľudského a zvieracieho pôvodu. Odporúča sa, aby boli materiály ľudského a zvieracieho pôvodu považované za potenciálne infekčné a bolo s nimi zaobchádzané v súlade s tým, ako popisuje štandard OSHA (Standard on Bloodborne Pathogens Biosafety Level 2), alebo použitím vhodných postupov biologickej bezpečnosti u materiálov, ktoré obsahujú alebo existuje podozrenie, že obsahujú infekčné látky.

Upozornenie: Federálne zákony vyhradzujú toto zariadenie na predaj lekárovi alebo na jeho objednávku.

 Nebezpečenstvo	Zastavovací roztok	VAROVANIE H314 – PREVENCIA P264 – P280 – REAKCIE P305+351+338 -	<p>Spôsobuje vážne poleptanie kože a poškodenie očí.</p> <p>Po manipulácii starostlivo umyte ruky. Noste ochranné rukavice/ochranný odev/ochranné okuliare/ochranu tváre.</p> <p>PO ZASIAHNUTÍ OČÍ: Niekoľko minút ich opatrne vyplachujte vodou. Ak používate kontaktné šošovky a ak je to možné, odstráňte ich. Pokračujte vo vyplachovaní.</p>
 Varovanie	Substrát	VAROVANIE H302 – H312 – H332 – PREVENCIA P260 – P271 – P280 – REAKCIE P301+310 – P304+340 – P312 -	<p>Škodlivý po požití. Škodlivý pri kontakte s pokožkou. Škodlivý pri vdýchnutí.</p> <p>Nevdychujte prach/dym/plyn/hmlu/pary/aerosóly. Používajte iba na voľnom priestranstve alebo v dobre vetranom priestore. Noste ochranné rukavice/ochranný odev/ochranné okuliare/ochranu tváre.</p> <p>PO POŽITÍ: okamžite volajte NÁRODNÉ TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÉ CENTRUM alebo lekára. PO VDÝCHNUTÍ: Presuňte postihnutého na čerstvý vzduch a nechajte ho odдыхovať v polohe, ktorá mu umožní pohodlné dýchanie. Pri zdravotných problémoch, volajte NÁRODNÉ TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÉ CENTRUM alebo lekára.</p>
	Premývací pufor (8X)	VAROVANIE H302 – H412 – EUH032 – PREVENCIA P264 – P270 – P273 – REAKCIE P301+310 – P330 -	<p>Škodlivý po požití. Škodlivý pre vodné organizmy, s dlhodobými účinkami. Pri kontakte s kyselinami uvoľňuje veľmi toxický plyn.</p> <p>Po manipulácii starostlivo umyte ruky. Pri používaní výrobku nejedzte, nepite ani nefajčite. Zabráňte uvoľneniu do životného prostredia.</p> <p>PO POŽITÍ: okamžite volajte NÁRODNÉ TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÉ CENTRUM alebo lekára. Vypláchnite ústa.</p>

PRÍPRAVA

Materiály/zariadenie potrebné, ale nedodávané

1. Čítačka 96-jamkovej platničky/prúžku so 405 nm filtrom.
2. Mikropipety na dávkovanie 100 µL. 8-kanálový dávkovač alebo podobné zariadenie na dávkovanie približne 250-300 µL na ručné umývanie (napríklad StatMatic 8-kanálový dávkovač od firmy Tricontinent).
3. Odmerné valce zo skla alebo plastu: 1x200 mL.
4. Destilovaná/deionizovaná voda.
5. Papierové utierky.
6. Časovač 30-, 35- a 60-minútových intervalov.

Príprava na analýzu

Umožnite všetkým zložkám súpravy, vrátane mikrotitračných prúžkov, aby sa po dobu 30–60 minút pred použitím ohriali na 18–25 °C. Činidlá premiešajte ich jemným prevracaním.

Pri uskladnení pri teplote 2-8 °C sa premývací pufor vyzráža (kryštálky budú viditeľné). Pred rozpustením vo vode nechajte premývací roztok, aby sa zohrial (ak je nutné tento proces urýchliť, môže sa pufor umiestniť do inkubátora pri 37 °C) až pokiaľ nie je voľným okom vidieť **NIJAKÚ** zrazeninu.

Nasledujúce činidlá zriedte a dôkladne premiešajte.

Činidlo	Objem	Pridať
Premývací pufrovaný koncentrát (8X)	1 ampulka	175 ml destilovanej/deionizovanej vody

Vypočítajte počet mikrotitračných prúžkov, ktoré budete potrebovať pre aktuálnu analýzu a umiestnite ich do držiaka mikrotitračných prúžkov. Zvyšné prúžky vráťte do znovu zalepiteľnej obalovej fólie s desikantom a uskladnite pri teplote 2–8 °C, až kým ich opäť nepotrebujete. Zabezpečte, aby všetky prúžky boli bezpečne uchytené v držiaku mikrotitračných prúžkov. Pre uľahčenie identifikácie môžu používatelia chcieť, aby každý prúžok bol očíslovaný pozdĺž vrchného okraja. Uchovajte držiak mikrotitračných prúžkov pre budúce použitie.

Každú vzorku pripravte pred testom pridaním rovnakého množstva Pre-Treatment (Predprípravy) k vzorke, napr. 150 µL vzorky plus 150 µL činidla Pre-Treatment. Predprípravené vzorky sa môžu pred testom skladovať uzavreté po dobu 24 h pri teplote 2-8 °C.

TESTOVACÍ PROTOKOL

1. Referenčné jamky pre identifikáciu.
2. Do vhodných jamôk napipetujte dvojmo 100 µl kalibrátorov, dvojmo kontrolné roztoky súpravy a tak isto dvojmo napipetujte predriedené (50:50) vzorky pacientov. Nezabudnite vymeniť hroty pipiet medzi jednotlivými pridaniami. Tento krok by nemal trvať dlhšie ako 15. minút.
3. Inkubujte 60 ± 10 minút pri 18–25 °C.
4. Obsah prúžkov zlejte rýchlym prevrátením nad výlevkou vhodnou pre znehodnotenie biologických materiálov, pri čom majte na pamäti možné nebezpečenstvo infekcie vzorkami. Prevrátené prúžky dôkladne vysajte pomocou papierových utierok. **Neoplachujte.**
5. Do každej jamky pridajte 100 µl konjugátu.
6. Inkubujte 35 ± 5 minút pri 18–25 °C.
7. Obsah prúžkov zlejte rýchlym prevrátením nad výlevkou vhodnou pre znehodnotenie biologických materiálov. Prevrátené prúžky dôkladne vysajte pomocou papierových utierok.
8. Jamky prepláchnite **päť razy** minimálne 250 µl zriedeného premývacieho pufru. **Zlejte a vysušte po každom pridaní premývacieho roztoku.**
9. Do každej jamky pridajte 100 µl substrátu.
10. Inkubujte 30 ± 5 minút pri 18–25 °C. **Nedekantujte.**
11. Do každej jamky pridajte 100 µl zastavovacieho roztoku, a to v rovnakom poradí a miere, ako ste pridali substrát. Jemne poklepte po jamkách, aby sa obsah premiešal.
12. Prúžky odčítajte pri 405 nm. Odčítajte v rozpätí 120 minút od pridanej zastavovacieho roztoku.

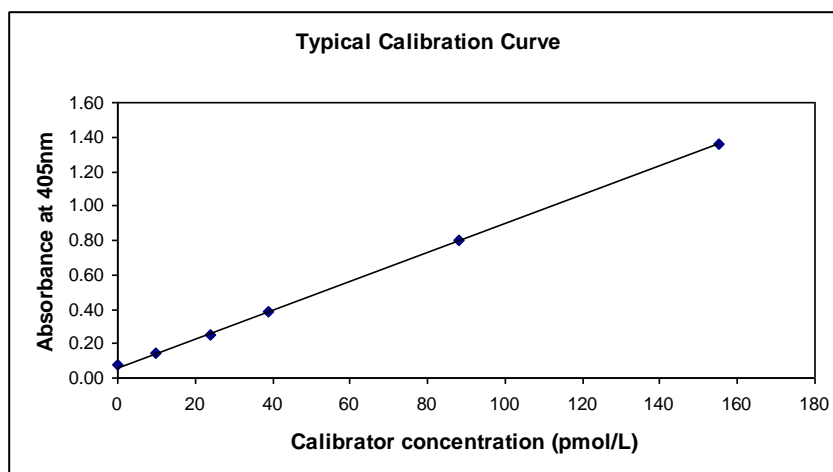
VÝPOČET A INTERPRETÁCIA VÝSLEDKOV

Hodnotu priemernej absorpcie každého kalibračného roztoku vyneste na os Y oproti zodpovedajúcej koncentrácii kalibračného roztoku na osi X.

KONCENTRÁCIE KALIBRÁTORA SÚ UVEDENÉ NA ŠTÍTKOCH LIEKOVIEK. HODNOTY KONCENTRÁCIE SÚ PRIDELené KAŽDEJ ŠARŽI KALIBRÁTOROV A MÔŽU VARIOVAŤ MEDZI ŠARŽAMI.

Koncentráciu (pmol/L) každej vzorky možno vypočítať vyhľadáním bodu na krivke, ktorý zodpovedá priemernej hodnote absorpcie vzorky, a odčítáním zodpovedajúcej koncentrácie v pmol/L na osi X. Tento postup je možno vykonať ručne použitím milimetrového papiera alebo platničkovej čítačky so softvérom zahŕňajúcom krivkové postupy. Ak použijete čítačku platničky s interným softvérom, vyneste priemerné hodnoty absorpcie kalibrátorov na os Y oproti jednotkám pmol/L na osi X a použite **algoritmus lineárnej regresie lícovania krivky**.

Typická krivka je zobrazená nižšie pre referenčné účely, no nesmie sa používať na interpretáciu výsledkov. Vzorky s koncentraciami vyššími 128 pmol/L sú mimo rozsah analýzy a musia byť zaznamenané ako >128 pmol/L a výsledky sa nesmú extrapolovať. Jednotlivé replikáty vzoriek s odchýlkou menej ako 20 % môžu byť považované za indikátory prijateľnosti testu.



VÝSLEDKY

Merná jednotka

Mernou jednotkou u testu Axis-Shield Active B12 (Holotranscobalamin) EIA je pmol/L.

Interval merania (zaznamenateľný rozsah)

Zaznamenateľný rozsah analýzy je 10 pmol/L až 128 pmol/L.

KONTROLA KVALITY

Zabezpečte, aby sa primeraná údržba a kalibrácia platničkovej čítačky vykonávala podľa pokynov výrobcu, a aby sa používala správna vlnová dĺžka (405 nm) spolu s algoritmom (lineárnou regresiou) lícovania krivky.

Používatelia musia zaistiť, aby boli plne oboznámení s návodom na analýzu, najmä s časťou Upozornenia a Bezpečnostné opatrenia, a s poznámkami, ktoré sa týkajú manipulácie a postupu. Skôr, ako používatelia oznámia výsledky analýz, mali by preukázať, že dokážu získať špecifikácie výkonnosti pre presnosť a zaznamenateľný rozsah výsledkov testov porovnateľných s tými, ktoré stanovil výrobca. Odporúča sa, aby nízke (LOW) a vysoké (HIGH) súpravy kontrolných roztokov (KIT CONTROLS) boli vo všetkých analýzach spracované dvojmo, aby sa monitorovala kvalita testovacieho postupu.

Ak predpokladáme, že sa podarilo dosiahnuť špecifikácie presnosti určené výrobcom, potom okolnosť, že niektorá kontrola nedosiahla špecifikácie pomeru kontroly robí analýzu neplatnou a výsledky pacienta sa nesmú zaznamenať. Operátor môže analýzu zopakovať po skontrolovaní postupu alebo po kontakte s dodávateľom/výrobcom. Ak analýzu opakujete, pripravte čerstvé nariadenie každej kontroly a vzorky. Niektoré laboratória si môžu želať, aby sa do každej analytickej procedúry zahrnuli jeho vlastné kontroly. Takýto kontrolný materiál skladujte pri teplote -20 °C alebo nižšej a vyhnite sa opakovaným cyklom zmrazenia a rozmrazenia. Konzervanty ako azid sodný pri <0,1 % (w/v) nemajú na výsledky vzoriek žiaden vplyv.

Referenčné rozsahy a vhodné body cut-off sa musia vypočítať pre špecifické populácie, ktorým poskytuje svoje služby daný používateľ.

Kontroly Špecifikácie

	Nízke	Vysoké
Špecifikácia (stredná hodnota duplikátu)	15 až 35 pmol/L	36 až 84 pmol/L

OČAKÁVANÉ HODNOTY

135 vzoriek séra z asymptomaticky zjavne zdravých darcov s vekovým rozpätím 18–75 rokov, medzi ktorými boli približne rovnaké počty mužov [n = 65] a žien [n = 70], bolo testovaných EIA firmy Axis-Shield Active-B12 (Holotranscobalamin).

Celková priemerná koncentrácia Active-B12 (Holotranscobalamin) u tejto populácie bola 72 pmol/L (rozpätie 15 až 147 pmol/L).

Na základe týchto referenčných populačných údajov referenčný rozsah (stredných 95 % výsledkov) je:

Referenčný rozsah
21 - 123 pmol/L

Tento referenčný rozsah sa navrhuje len ako vodidlo a každé laboratórium si musí stanoviť svoj vlastný referenčný rozsah, ktorý môže byť jedinečný pre danú populáciu, ktorú obsluhuje, v závislosti od zemepisných, patientskych, diétnych, environmentálnych faktorov alebo klinickej praxe.

TECHNICKÉ ÚDAJE

Linearita riedenia

Na základe štúdie uskutočnenej podľa smerníc dokumentu EP6-A¹⁰ vydaného CLSI, test Axis-Shield Active-B12 EIA (Holotranscobalamin) preukázal linearitu od 5,3 do 156,0 pmol/L.

Presnosť

Uskutočnila sa korelačná štúdia so vzorkami zjavne zdravých dospelých. Všetky vzorky boli analyzované testom Axis-Shield Active-B12 (Holotranscobalamin) EIA a komerčne dostupným testom na holotranscobalamin podľa dokumentu EP9-A2¹¹ vydaného CLSI. Koncentrácie vzoriek boli v rozsahu od 13,8 do 112,8 pmol/L. Získané údaje dávajú nasledujúce štatistické hodnoty:

Analýza Axis-Shield Active-B12 (Holotranscobalamin) EIA v porovnaní s komerčne dostupnou analýzou		
Počet vzoriek		111
Štrmosť regresnej línie (regresia Passing a Bablock) (95 % CI)		0,95 (0,89 až 1,01)
Úsek na súradnicovej osi Y (regresia Passing a Bablock) (95 % CI)		8,39 (5,73 až 11,77)
Korelačný koeficient (r) (Pearson) (95 % CI)		0,93 (0,90 až 0,95)

Presnosť

7 vzoriek ľudského séra bolo testovaných s použitím 3 šarží reagensí. Vzorky boli analyzované 2 operátormi v 8 replikách, raz denne po dobu 5 dní (n=80) Údaje z tejto štúdie sú zhrnuté v nasledujúcej tabuľke:

Vzorka	n	Šarža	Operátor	Priemer (pmol/L)	Variabilita v rámci testu % CV	% CV celkom
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%
Nízka kontrola	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%
Vysoká kontrola	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%

Hranica prázdnej vzorky

Určenia hranice prázdnej vzorky v reprezentatívnej štúdií boli vykonané s použitím dvoch vzoriek s nízkou hladinou holotranskobalamínu a dvoch šarží činidiel (so 120 replikami na šaržu činidiel). Bolo zistené, že hranica prázdnej vzorky testu Axis-Shield Active B12 (Holotranscobalamin) EIA je 4,9 pmol/L (zaokrúhlené na 1 desatinné miesto).

Hranica detekcie

Určenia hranice detekcie v reprezentatívnej štúdií boli vykonané s použitím piatich vzoriek s nízkou hladinou holotranskobalamínu a dvoch šarží činidiel (so 120 replikami na šaržu činidiel). Bolo zistené, že hranica detekcie testu Axis-Shield Active B12 (Holotranscobalamin) EIA je 8,1 pmol/L (zaokrúhlené na 1 desatinné miesto),

Hranice kvantifikácie / Funkčná citlivosť

Určenia hranice kvantifikácie / funkčnej citlivosti boli vykonané s použitím piatich vzoriek s nízkou hladinou holotranskobalamínu (každá s 120 replikami). Bolo zistené, že hranica kvantifikácie/funkčnej citlivosti testu Axis-Shield Active B12 (Holotranscobalamin) EIA je 8,3 pmol/L (zaokrúhlené na 1 desatinné miesto).

Efekt vysokej dávky (hook effect)

Efekt vysokej dávky (hook effect) je fenomén, pri ktorom sa vzorky s vysokou hladinou môžu interpretovať v rámci dynamického rozsahu analýzy. U testu Axis-Shield Active B12 (Holotranscobalamin) EIA nebol efekt vysokej dávky (hook effect) detegovaný analýzou sériových zriedení vzorky o koncentracii približne 419 a 2236 pmol/L.

Křížová reaktivita

Test Axis-Shield Active-B12 (Holotranscobalamin)-EIA je dimenzovaný tak, aby sa maximálna odchýlka v koncentrácii holotranskobalamínu $\leq 10\%$ prejavila za prítomnosti apotranskobalamínu alebo haptokorínu.

Na základe smernice dokumentu EP7-A2¹², vydaného Ústavom klinických a laboratórných noriem (Clinical and Laboratory Standards Institute – CLSI) bola uskutočnená štúdia. Do troch vzoriek s hladinami holotranskobalamínu naprieč rozsahu testu bolo pridaných 500 pmol/L apotranskobalamínu alebo 5 000 pmol/L haptokorínu. Maximálna odchýlka v koncentrácii holotranskobalamínu siahala od -5 % po 1 %.

Interferencia

Test Axis-Shield Active-B12 (holotranscobalamin) EIA je dimenzovaný tak, aby sa maximálna odchýlka v koncentrácii holotranskobalamínu $\leq 10\%$ prejavila za prítomnosti potenciálne rušivých zlúčenín.










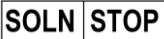





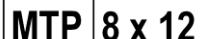
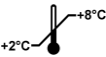
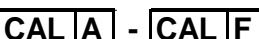

Na základe smernice dokumentu EP7-A2¹² vydaného Ústavom klinických a laboratórných noriem (Clinical and Laboratory Standards Institute – CLSI) bola uskutočnená štúdia. Vzorky s hladinami holotranskobalamínu naprieč rozsahu analýzy boli doplnené potenciálne rušivými zlúčeninami, ktorých zoznam je uvedený v tabuľke nižšie. Maximálna odchýlka v koncentrácii holotranskobalamínu siahala od -10 % po 8 %.

Potenciálne interferujúce látky	Žiadna interferencia nebola nájdená až do nasledujúcich koncentrácií
hemoglobín	500 mg/dL
bilirubín	30 mg/dL
triglyceridy (roztok Intralipidu)	3000 mg/dL
reumatoidný faktor	7500 IU/dL
celkový proteín	9000 mg/dL

POUŽITÁ LITERATÚRA

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 SYMBOLU

	Diagnostický lekársky prípravok <i>in vitro</i>		Nízka kontrola
	Katalógové číslo		Vysoká kontrola
	Šarža		Konjugát
	96 testov		Substrát
	Pozor		Zastavovací roztok
	Pozri návod na použitie		Pre-Treatment
	Chráňte pred svetlom		Premývací pufor
	Použiť do		Mikrotitračné (odlomiteľné) prúžky
	Skladujte pri 2–8 °C		Kalibrátory A až F
Rx Only	Iba na lekársky predpis		Výrobca:



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