

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

**ENDAST FÖR PROFESSIONELL ANVÄNDNING**

Läs markerade ändringar,  
reviderade i september 2019

### AVSEDD ANVÄNDNING

Analysen Axis-Shield Active-B12 (Holotranscobalamin) är en EIA-analys (enzym-immunoanalys) för kvantitativ bestämning av holotranscobalamin (HoloTC) i humant serum. HoloTC (vitamin B<sub>12</sub>bunden vid transcobalamin) används som hjälpmedel vid diagnosticering och behandling av brist på vitamin B<sub>12</sub>.

### INLEDNING

Tre bindningsproteiner är involverade i transport av vitamin B<sub>12</sub> runt i kroppen - Intrinsic Factor (IF), transcobalamin (TC) och haptocorrin (HC). Dessa bindningsproteiner säkerställer effektiviteten i upptagandet av de mycket små mängderna vitamin B<sub>12</sub> som erhålls ur dieten. När TC och HC binder vitamin B<sub>12</sub> blir de resulterande komplexen kända som holotranscobalamin (HoloTC) och holohaptocorrin (HoloHC) för att skilja dem från de proteiner som inte bär på någon vitamin.

Den större fraktionen i cirkulationen, HoloHC, representerar 70 - 90 % av vitamin B<sub>12</sub> i blodet men är biologiskt inert. HoloTC representerar endast 10 - 30 % av vitamin B<sub>12</sub> som cirkulerar i blodet men är den enda formen av vitamin B<sub>12</sub> som kan tas upp av cellerna i kroppen. TC-proteinet ensamt transporterar vitamin B<sub>12</sub> från dess absorptionsställe i ileum till vävnaderna och cellerna. Vitaminen internaliseras därefter som HoloTC (vitamin B<sub>12</sub> bunden till transcobalamin) -komplex via ett specifikt receptor-medierat upptagande. Denna process levererar vitamin B<sub>12</sub> in i kroppens celler och tillställer vitaminen som ett koenzym för essentiella cellfunktioner såsom DNA-syntes.






Eftersom HoloTC har en kortare cirkulerande halveringstid jämfört med HoloHC så kommer mycket troligt den tidigaste förändring som sker efter inställandet av en negativ vitamin B<sub>12</sub> -balans att utgöras av en minskning i serum-HoloTC-koncentrationen<sup>1</sup>.


Mätningen av Total Serum B<sub>12</sub> utsätts för vissa begränsningar; och i synnerhet gäller att det mesta av uppmätt cobalamin binds vid biologiskt inert HC. Det har publicerats ett flertal studier där slutsatsen dras att HoloTC vore en bättre indikator på vitamin B<sub>12</sub> -status än Total Serum B<sub>12</sub><sup>2,3</sup>. HoloTC-nivåerna är som förväntat låga i patienter med biokemiska tecken på vitamin B<sub>12</sub>-brist<sup>4</sup>. Det har rapporterats om låga värden i vegetarianer<sup>5</sup>, veganer<sup>6</sup> och i populationer med lågt intagande av vitamin B<sub>12</sub><sup>7</sup>. Det kan noteras att låga nivåer av HoloTC men ej av Total B<sub>12</sub> har rapporterats i patienter med Alzheimers sjukdom jämfört med nivåer hos en frisk kontrollgrupp<sup>8</sup>. HoloTC-nivåerna reflekterar vitamin B<sub>12</sub>-status, oberoende av nyligen skedd absorption av vitaminen<sup>9</sup>.

### ANALYSENS PRINCIP

Mikrotiterbrunnarna är belagda med en i hög grad specifik monoklonal antikropp för Active-B12 (Holotranscobalamin). Under den första inkubationen binder holotranscobalamin i serum specifikt till den antikroppsbelagda ytan. I den andra inkubationen binder konjugatet till varje uppfångad holotranscobalamin. Brunnarna tvättas därefter för att avlägsna obundna komponenter. Bunden holotranscobalamin upptäcks genom inkubation med substratet. Tillsats av stopplösning avslutar reaktionen vilket resulterar i en färgad slutprodukt. Koncentrationen av holotranscobalamin i pmol/L står i direkt relation till den genererade färgen och kan uppskattas med hjälp av interpolation från en dosrespons-kurva baserat på kalibratorer.

### SATSINNEHÅLLETETS KOMPONENTER

<b>CONJ</b>	1 × 15 mL	Alkalin-fosfatasmärkt murin monoklonal antikropp till human transcobalamin i Tris buffert med proteinstabilisator. Konserveringsmedel: < 0,1 % (vikt/volym) natriumazid. <b>Klart för användning.</b>	
<b>SUBS</b>	1 × 15 mL	para-NitroFenyl Fosfat (pNPP), buffertlösning. <b>Klart för användning.</b> Får ej utsättas för ljus vid förvaring. <b>OBS! VARNING</b>	 
<b>SOLN STOP</b>	1 × 15 mL	1M Natriumhydroxid, (pH >10). <b>Klart för användning.</b> <b>OBS! FARA</b>	
<b>BUF WASH 8X</b>	2 × 25 mL	Fosfatbuffert Konserveringsmedel: < 0,72 % (vikt/volym) +natriumazid. <b>Utspäd före användning OBS! VARNING</b>	
<b>MTP 8X12</b>	12 × 8 brunn (isärbrytbara) strips för mikrotitrering	Belagt med anti-holotranscobalamin murin monoklonal antikropp, i en återförslutbar folieförpackning med torkmedel.	
<b>CAL A - CAL F</b>	6 × 1.0 mL	Cal A är en fosfatbuffert med proteinstabilisator (bovin). Konserveringsmedel: < 0,1 % (vikt/volym) natriumazid. Cal B-F utgörs av en fosfatbuffert med proteinstabilisator (bovin) som innehåller HoloTC. Konserveringsmedel: < 0,1 % (vikt/volym) natriumazid. <b>Klart för användning. Får ej utsättas för ljus vid förvaring. AVLÄS KONCENTRATIONEN PÅ FLASKETIKETTERNA.</b>	

<b>CONTROL L</b>	1 × 1.0 mL	Fosfatbuffert med proteinstabilisator (bovin) som innehåller HoloTC. Konserveringsmedel: < 0,1 % (vikt/volym) natriumazid. <b>Klart för användning. Får ej utsättas för ljus vid förvaring.</b>	
<b>CONTROL H</b>	1 × 1.0 mL		
<b>PRE-TREATMENT</b>	1 × 25 mL	Citratbuffert Konserveringsmedel: < 0,1 % (vikt/volym) natriumazid. <b>Klart för användning..</b>	

## STANDARDISERING

Det finns ingen aktuell internationellt erkänd referensmetod eller referensmaterial för standardisering. Kalibratorer för Axis-Shield Active-B12 (Holotranscobalamin) är spårbara till inre referensstandarder som genomgick en värdetilldelning vid ett tillfälle.

## FÖRVARING AV REAGENSER

### Öppnad (i bruk) kit (satsstabilitet)

Ett kit öppnades och återanvändes vid tre tillfällen under en 3-månadersperiod utan någon negativ inverkan på satsinnehållets prestanda. Efter avslutad användning måste komponenterna återgå i förvaring vid 2 - 8 °C.

### Oöppnat kit (satsstabilitet)

Oöppnade komponenter är stabila vid 2 - 8 °C fram till utgångsdatum som anges på etiketterna.

### Notiser rörande hantering och förfarande

1. Förvara satsinnehållets komponenter vid 2 - 8 °C och använd innehållet fram till det angivna utgångsdatumet på etiketten. Utgångna reagenser får ej användas.
2. Varje lot av reagenser och kalibratorer har standardiserats så att korrekt reaktion åstadkommes. Se till att inte blanda samman reagenser och kalibratorer loterna emellan.
3. Kalibratorkoncentrationer visas på flasketiketterna och kan variera mellan loterna.
4. Kits med satsinnehåll får ej frysas.
5. Tvättbuffertkoncentrat måste spädas ut före användning. Alla andra reagenser är klara för användning.
6. Utspädd tvättbuffert är stabil i minst 3 månader ifall mikrobkontaminering kan undvikas. Låt återgå till 2 - 8 °C förvaring efter användning.
7. Sätt tillbaka överskotts- (oanvända) mikrotitreringsstrips i folieförpackningen tillsammans med torkmedlet. Försäkra dig om att förslutningen är helt intakt och låt återföra till 2 - 8 °C, tills produkten ska användas på nytt.
8. Kalibratorer, kontroller eller substrat får ej utsättas för ljus under förvaringen.
9. Undvik kontaminering av reagenserna. Använd för varje reagens eller provmanipulation en ny pipettspets för engångsbruk.

### Tecken på försämrade egenskaper

Substratet ska till sin färg vara färglöst till blekgult. Mörkare guldfärgning indikerar kontaminering och reagenset måste kasseras. Grumlighet eller fällning i någon komponent indikerar försämring och komponenten ska kasseras.

### Insamling och lagring av prover

1. Analysen är rekommenderad för humanserum (inkl. slangar för serumseparator).
2. Använd inte överhemolyserade eller grumliga prover.
3. Utför omsorgsfull blandning av upptinade prover före analysen och undvik upprepade frysning/tining.
4. Prover kan genomgå 3 frysning-/tiningcykler. Upptinade prover ska centrifugeras vid  $\geq 10\,000\text{ g}$  i fem minuter före analysutförandet.
5. Utsätt inte de olika proverna för temperaturer över rumstemperatur under längre tid än över natten ( $\leq 16$  timmar).
6. Prover kan förvaras bearbetade vid 2 - 8 °C i upp till tre dagar eller obearbetade i fyra veckor. Vid längre tids förvaring måste proverna förvaras obearbetade vid -20 °C i upp till sex månader.
7. Förbered varje prov före analys genom att tillsätta en lika stor mängd volym av förbehandling och prov, t.ex. 150  $\mu\text{L}$  prov plus 150  $\mu\text{L}$  förbehandling. Förbehandlade prover kan med påsatta lock förvaras i upp till 24 timmar vid 2 - 8°C före analys.



## VARNINGAR OCH FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRDER

### Endast för *in vitro*-diagnostisk användning. Säkerhetsföreskrifter

1. Följ noggrant instruktionerna i denna broschyr, speciellt med avseend på villkoren för hantering och förvaring.
2. Pipettera inte med munnen.
3. På ställen där kiten eller prover hanteras får ingen rökning, förtäring eller sminkning förekomma.
4. Hudbesvär, skärsår, skrubbsår och andra hudlesioner ska skyddas på lämpligt sätt.
5. Kalibratorer, kontroller, konjugat, förbehandling och tvättbuffertkoncentrat innehåller natriumazid som kan reagera med bly och koppar så att det bildas högexplosiva metallazider. Vid avyttring ska stora mängder vatten dräneras för att förhindra uppbyggnad av azid.
6. Stopplösningen innehåller natriumhydroxid. Undvik kontakt med hud, ögon och slemhinnor. Spill och utsläpp ska uppmoppas med stora mängder vatten. Ifall kontakt sker med hud eller ögon ska det sköljas med vatten samt omedelbart sökas medicinsk vård.

- Materialsäkerhetsdatablad (SDS) finns på begäran tillgängliga från Axis-Shield Diagnostics för samtliga riskkomponenter som ingår i denna kit.
- Denna produkt kräver hantering av prover och material från människa och djur. Det rekommenderas att alla sådana prover och material anses vara potentiellt smittsamma och hanteras i enlighet med OSHA:s standard om blodburna patogener, biosäkerhetsnivå 2, eller så ska andra tillämpliga föreskrifter om biosäkerhet tillämpas för material som innehåller eller misstänks innehålla smittsamma ämnen.

Observera: Enligt federal lag får denna enhet endast säljas av läkare eller på uppdrag av en läkare.

 <p><b>Fara</b></p>	<p><b>Stopplösning</b></p>	<p><b><u>VARNING</u></b> H314 – <b><u>FÖREBYGGANDE</u></b> P264 – P280 – <b><u>RESPONS</u></b> P305+351+338 -</p>	<p>Orsakar allvarliga frätskador på hud och ögon.</p> <p>Tvätta händer grundligt efter användning. Använd skyddshandskar/skyddskläder/ögonskydd/ansiktsskydd.</p> <p>VID KONTAKT MED ÖGONEN: Skölj försiktigt med vatten i flera minuter. Ta ur eventuella kontaktlinser om det går lätt. Fortsätt att skölja.</p>
 <p><b>Varning</b></p>	<p><b>Substrat</b></p>	<p><b><u>VARNING</u></b> H302 – H312 – H332 – <b><u>FÖREBYGGANDE</u></b> P260 – P271 – P280 – <b><u>RESPONS</u></b> P301+310 –  P304+340 –  P312 -</p>	<p>Skadligt vid förtäring. Skadligt vid hudkontakt. Skadligt vid inandning.</p> <p>Inandas inte damm/rök/gaser/dimma/ångor/sprej. Används endast utomhus eller i väl ventilerade utrymmen. Använd skyddshandskar/skyddskläder/ögonskydd/ansiktsskydd.</p> <p>VID FÖRTÄRING: Kontakta genast GIFTINFORMATIONSCENTRAL eller läkare. VID INANDNING: Flytta personen till frisk luft och se till att han eller hon vilar i en ställning som underlättar andningen. Vid obehag, kontakta GIFTINFORMATIONSCENTRAL eller läkare.</p>
	<p><b>Tvättbuffert (8X)</b></p>	<p><b><u>VARNING</u></b> H302 – H412 – EUH032 – <b><u>FÖREBYGGANDE</u></b> P264 – P270 – P273 – <b><u>RESPONS</u></b> P301+310 –  P330 -</p>	<p>Skadligt vid förtäring. Skadliga långtidseffekter för vattenlevande organismer. Utvecklar mycket giftig gas vid kontakt med syra.</p> <p>Tvätta händer grundligt efter användning. Ät inte, drick inte och rök inte när du använder produkten. Undvik utsläpp till miljön.</p> <p>VID FÖRTÄRING: Kontakta genast GIFTINFORMATIONSCENTRAL eller läkare. Skölj munnen.</p>

## FÖRBEREDELSE

### Material/utrustning som krävs men som ej medföljer:

- 96-brunn platt-/stripläsare 405 nm filter.
- Precisionspipett(er) för dosering av 100 µL. En 8-kanals utmatare, eller liknande, för dosering av cirka 250 - 300 µL för manuell tvättning (t.ex. StatMatic 8-channel dispenser från Tricontinent).
- Mätcylinder av glas/plast, 1x200 mL.
- Destillerat/avjoniserat vatten.
- Pappershanddukar.
- Tidtagningsur för tidsintervall om 30, 35 och 60 minuter

### Föreberedelse för analys

Låt uppvärma samtliga kit-komponenter, inklusive mikrotitreringsstripsen, till 18 - 25 °C i 30 - 60 minuter före användning. Blanda reagensen med en försiktig upp-och-nedvändning (inversion).

Tvättbufferten utfaller (kristaller blir eventuellt synliga) när den förvaras vid 2 - 8 °C. Före utspädning med vatten ska tvättbufferten uppvärmas (kan placeras i en inkubator vid 37 °C, ifall detta krävs för uppsnabbning av processen) tills **INGEN** precipitation är synlig för blotta ögat.

Späd följande reagens och blanda omsorgsfullt:

Reagens	Volym	Lägg till
Tvättbuffertkoncentrat x 8	1 flaska	175 mL destillerat/avjoniserat vatten

Beräkna antalet mikrotitreringsstrips som krävs för föreliggande analys och ha dessa kvar i striphållaren för mikrotitrering. Sätt tillbaka överskotts-strips i den återförslutbara folieförpackningen med torkmedlet och förvara vid 2 - 8 °C tills produkten ska användas på nytt. Se till att samtliga strips sitter ordentligt fast inuti striphållaren för mikrotitrering. Användaren önskar eventuellt siffermärka respektive strip längs den övre kanten för lättare identifiering. Bevara mikrotitrerings-/striphållaren för framtida bruk. Förbered varje prov före analys genom att tillsätta lika stor mängd volym av förbehandling och prov, exv. 150 µL prov plus 150 µL förbehandling. Förbehandlade prover med påsatta lock förvaras i upp till 24 timmar vid 2 - 8 °C före analys.

## ANALYSPROTOKOLL

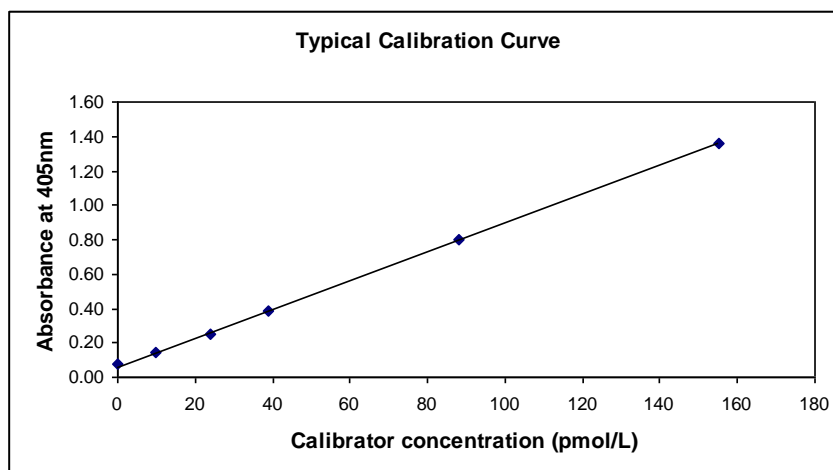
1. Referensbrunnar för identifikation.
2. Utför pipettering av 100 µL kalibratorer i dublett, kit-kontroller i dublett och förbehandlade (50:50) patientprover i dublett, ned i lämpliga brunnar. Kom ihåg att byta pipettspetsar mellan tillsatserna. Detta steg bör inte överstiga 15 minuter.
3. Utför inkubering under 60 ± 10 minuter vid 18 - 25 °C.
4. Dekantera stripsinnehållet medelst snabb upp-och-nedvändning över en tvättho för avyttring av biologiskt material, under beaktande av potentiell infektionsrisk från proverna. Tryck de inverterade stripsen mot pappershanddukar. **Tvätta inte.**
5. Tillsätt 100 µL konjugat till varje brunn.
6. Utför inkubering under 35 ± 5 minuter vid 18 - 25 °C.
7. Dekantera stripsinnehållet medelst snabb upp-och-nedvändning över en tvättho som är lämplig för avyttring av biologiskt material. Tryck de inverterade stripsen mot pappershanddukar.
8. Tvätta brunnarna **fem gånger** med minst 250 µL utspädd tvättbuffert. **Häll av och sug upp överskottsvätska efter varje tvättning.**
9. Tillsätt 100 µL substrat till varje brunn.
10. Inkubera under 30 ± 5 minuter vid 18 - 25 °C. **Häll inte av vätskan.**
11. Tillsätt 100 µL stopplösning till varje brunn, i samma ordning och med samma takt som substratet. Knacka försiktigt på brunnarna för att blanda.
12. Avläs stripsen vid 405 nm. Avläs inom 120 minuter efter tillsats av stopplösning.

## BERÄKNING OCH TOLKNING AV RESULTATEN

Rita kurvan för medelabsorbansvärdet för respektive kalibrator på y-axeln mot motsvarande koncentration i pmol/L på x-axeln. **KALIBRATORKONCENTRATIONERNA VISAS PÅ FLASKANS ETIKETTER. KONCENTRATIONSVÄRDENA TILLDELAS RESPEKTIVE KALIBRATORLOTNUMMER OCH KAN VARIERA FRÅN LOTNUMMER TILL LOTNUMMER.**

Koncentrationen (pmol/L) för varje prov kan beräknas genom att lokalisera punkten på kurvan som motsvarar medelabsorbansvärdet för provet och avläsa motsvarande koncentration i pmol/L på x-axeln. Detta kan utföras manuellt med millimeterpapper eller en plattavläsare med mjukvara för kurvanpassning. Om en plattavläsare används med intern mjukvara ska **en kurvanpassningsalgoritm med linjär regression** användas.

Ett exempel på kalibreringskurva visas nedan som referens men den ska inte användas för tolkning av resultat. Prover med koncentrationer över 128 pmol/L ligger utanför analysintervallet och ska registreras som > 128 pmol/L och resultaten får inte extrapoleras. Enskilda provreplikater som avviker med mindre än 20 % kan anses påvisa analysens godtagbarhet.



## RESULTAT

### Mätenhet

Mätenheten för analysen Axis-Shield Active-B12 (Holotranscobalamin) är pmol/L.

### Mätintervall (rapporterbart intervall)

Mätintervallet för analysen är 10 pmol/L till 128 pmol/L.

## KVALITETSSÄKRING

Se till att plattavläsaren får föreskrivet underhåll och kalibreras enligt tillverkarens anvisningar, och att korrekt våglängd (405 nm) och kurvpassande algoritim (linjär regression) används.

Användaren ska se till att vara helt införstådd med analysanvisningarna, speciellt, avsnittet Varningar och försiktighetsåtgärder, liksom med notiserna om hantering och förfarande. Användaren ska kunna visa att de kan uppnå värden i fråga om precision och rapporterbara intervall för analysresultaten som kan jämföras med tillverkarens uppgifter innan patientens testresultat rapporteras. För att kunna övervaka kvaliteten i testproceduren måste låga och höga kontrollprov i kitet, som är klara för användning, dubbleras vid alla analyser.

Under antagande att de precisionsvärden som tillverkaren uppger kan uppnås, måste analys där kontrollerna faller utanför specifikationerna nedan ogiltigförklaras, varvid patientresultaten inte ska rapporteras. Användaren kan eventuellt upprepa analysen efter granskning av sitt förfarande, eller ta kontakt med distributören/tillverkaren. Ifall analysen upprepas, förbered en ny utspädning av respektive prov. Laboratorierna kan vilja inkludera egna kontroller vid varje analys. Sådant kontrollmaterial ska förvaras vid eller under -20 °C och undvika upprepade frys-/tiningscyklar. Konserveringsmedel såsom natriumazid vid <0,1 % (vikt/volym) kommer inte att påverka provresultaten.

Referensintervall och lämpliga avkapningspunkter ska uträknas för de specifika populationer som en användare tar i bruk.

### Kontrollspecifikationer

	Låg	Hög
Specifikation (medelvärde för duplikat)	15 to 35 pmol/L	36 to 84 pmol/L

## FÖRVÄNTADE VÄRDEN

135 serumprov från asymptomatiska, till synes friska blodgivare i ett åldersintervall av 18 - 75 år, bestående av ungefär lika antal män [n = 65] och kvinnor [n = 70], testades med Axis-Shield Active-B12 (Holotranscobalamin) EIA.

Total medelkoncentration Active-B12 (Holotranscobalamin) för denna population uppgick till 72 pmol/L (intervall 15 till 147 pmol/L).

På basis av dessa referens-populationsdata utgör referensintervallet (centrala 95 % av resultaten):

Referensintervall  
21 – 123 pmol

Det här referensintervallet är enbart en föreslagen riktlinje och varje laboratorium bör fastställa sitt eget referensintervall som passar för den aktuella patientpopulationen, beroende på ålder, kön, geografisk härkomst, diet och klinisk praktik.

## PRESTANDA DATA

Endast representativa data, resultat för enskilda laboratorier kan variera.

### Dilutionslinjäritet

Baserat på en studie som genomfördes med ledning av CLSI-dokumentet EP6-A<sup>10</sup>, så demonstrerades med Axis-Shield Active-B12 (Holotranscobalamin) EIA en linjäritet från 5,3 till 156,0 pmol/L.

### Precision

En korrelationsstudie genomfördes med serumprov från till synes friska, vuxna personer. Samtliga prov analyserades med användning av Axis-Shield Active-B12 (Holotranscobalamin) EIA och en kommersiellt tillgänglig analys med avseende på Holotranscobalamin i enlighet med CLSI-dokumentet EP9-A2<sup>11</sup>. Provkoncentrationerna varierade från 13,8 till 112,8 pmol/L. Erhållna data gav följande statistiska värden:

Axis-Shield Active-B12 (Holotranscobalamin) EIA kontra en kommersiellt tillgänglig analys	
Antal prover	111
Regressionslinjens lutning (Passing-Bablok regression) (95 % KI)	0,95 (0,89 till 1,01)
Y-skärning (Passing-Bablok regression) (95 % KI)	8,39 (5,73 till 11,77)
Korrelationskoefficient (r) (Pearson) (95 % KI)	0,93 (0,90 till 0,95)

### Precision

7 humanserumprover analyserades vid Axis-Shield med användning av 3 reagenslotnummer. Proverna analyserades av 2 operatörer i replikat på 8, en gång om dagen under 5 dagar (totalt n = 80). Data från denna studie är sammanfattade i följande tabell:

Prov	n	Lot	Operatör	Medelvärde (pmol/L)	% CV inom analyser	% CV totalt
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 %
Låg kontroll	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 %
Hög kontroll	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 %

### Blankprovsgrens

I en representativ studie utfördes bestämningar av blankprovsgrens med användning av två lågnivåprover av holotranscobalamin och två reagenslotnummer (120 replikat per reagenslotnummer). Blankprovsgremsen för Axis-Shield Active-B12 (Holotranscobalamin) EIA befanns vara 4,9 pmol/L (avrundad till en decimal).

### Detektionsgräns

I en representativ studie utfördes bestämningar av detektionsgräns med användning av fem lågnivåprover av holotranscobalamin och två reagenslotnummer (120 replikat per reagenslotnummer). Detektionsgränsen för Axis-Shield Active-B12 (Holotranscobalamin) EIA befanns vara 8,1 pmol/L (avrundad till en decimal).

### Kvantifieringsgräns

Bestämningar av kvantifieringsgräns utfördes med användning av fem lågnivåprover av holotranscobalamin och två reagenslotnummer (120 replikat per reagenslotnummer). Kvantifieringsgränsen för Axis-Shield Active-B12 (Holotranscobalamin) EIA befanns vara 8,3 pmol/L (avrundad till en decimal).

### Högdos-hook

En högdos-hook är ett fenomen där prover av mycket hög nivå kan avläsas inom analysens dynamiska intervall. Beträffande Axis-Shield Active-B12 (Holotranscobalamin) EIA detekterades ingen effekt av högdos-hook genom analys av två prover med en koncentration på cirka 419 och 2236 pmol/L.

### Tvärgående reaktivitet

Axis-Shield Active-B12 (Holotranscobalamin) EIA är utformat att ha en maximal avvikelse i holotranscobalamin-koncentrationen på  $\leq 10\%$  i närvaro av avapotranscobalamin eller haptocorrin.

En studie genomfördes baserad på dokument EP7-A2<sup>12</sup> från Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Tre prover med holotranscobalamin-nivåer tvärs över analysintervallet komplementerades med 500 pmol/L apotranscobalamin eller 5000 pmol/L haptocorrin. Största avvikelsen i holotranscobalamin-koncentrationen varierade mellan -5% och 1%.

### Interferens

Axis-Shield Active-B12 (Holo-transcobalamin) EIA är utformat att ha en maximal avvikelse i holo-transcobalamin-koncentrationen på  $\leq 10\%$  i närvaro av föreningar med potentiellt interfererande egenskaper.






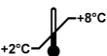

En studie genomfördes baserad på dokument EP7-A212 från Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Prover med holo-transcobalamin-nivåer tvärs över analysintervallet komplementerades med de föreningar av potentiellt interfererande slag som finns listade i tabellen nedan. Största avvikelsen i holo-transcobalamin-koncentrationen varierade mellan -10% och 8%.

Potentiellt interfererande substans	Ingen interferens påträffad upp till följande koncentration
Hemoglobin	500 mg/dL
Bilirubin	30 mg/dL
Triglycerid (Intralipid lösning)	3000 mg/dL
Reumatoid faktor	7500 IE/dL
Totalprotein	9000 mg/dL

### REFERENSER

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 holo-transcobalamin, 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. Holo-transcobalamin, 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 (holo-transcobalamin, 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 holo-transcobalamin 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.* Holo-transcobalamin 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 holo-transcobalamin. *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.

## LEGENDA

<b>IVD</b>	<i>In vitro</i> diagnostika	<b>CONTROL L</b>	Lågkontrollprov
<b>REF</b>	Katalognummer	<b>CONTROL H</b>	Högkontrollprov
<b>LOT</b>	Lot	<b>CONJ</b>	Konjugat
	96 tester	<b>SUBS</b>	Substrat
	Var försiktig!	<b>SOLN STOP</b>	Stopplösning
	Se bruksanvisningen	<b>PRE-TREATMENT</b>	Förbehandling
	Skyddas från ljuspåverkan	<b>BUF WASH 8X</b>	Tvättbuffert
	Används före	<b>MTP 8 x 12</b>	(Isärbrytbara) strips för mikrotitrering
	Förvaras vid 2 - 8 °C	<b>CAL A</b> - <b>CAL F</b>	Kalibratorer A - F
<b>Rx Only</b>	Används endast vid förskrivning		Tillverkas av



**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