

 AXIS-SHIELD Innovation for Life	Axis-Shield Active-B12 (Holotranscobalamin) EIA		 IVD	tr
	REF FMABT100	 96		

SADECE PROFESYONEL KULLANIM İÇİNDİR

Vurgulanmış değişiklikleri okuyun,
revizyon Eylül 2019

AMAÇLANAN KULLANIM ŞEKLİ

Axis-Shield Active-B12 (Holotranscobalamin) testi insan serumunda holotranskobalaminin (HoloTC) kantitatif olarak belirlenmesi amaçlı bir enzim immünotestidir (EIA). HoloTC (transkobalamine bağlı vitamin B₁₂) vitamin B₁₂ eksikliğini tanı ve tedavisinde bir yardımcı olarak kullanılır.

GİRİŞ

Vitamin B₁₂'nin vücut içinde taşınmasıyla ilişkili üç protein vardır - İntrensek Faktör (IF), transkobalamin (TC) ve haptokorrin (HC). Bu bağlayıcı proteinler diyetle sağlanan çok düşük vitamin B₁₂ miktarlarının etkin bir şekilde alınmasını sağlarlar. TC ve HC vitamin B₁₂ bağladığı zaman oluşan komplekslere vitamin taşımayan proteinlerden ayırt edilebilmeleri için holotranskobalamin (HoloTC) ve holohaptokorrin (HoloHC) denir.

Dolaşımdaki temel fraksiyon olan HoloHC kanda vitamin B₁₂'nin %70-90'ını temsil eder ama biyolojik olarak inerttir. HoloTC kanda dolaşan vitamin B₁₂'nin sadece %10-30'unu temsil eder ama vücuttaki hücreler tarafından alınabilen tek vitamin B₁₂ şeklidir. TC proteini tek başına vitamin B₁₂ ileumdaki emilim yerinden dokular ve hücrelere taşır. Vitamin daha sonra spesifik reseptör aracılığıyla alım yoluyla HoloTC (transkobalamine bağlı vitamin B₁₂) şeklinde içeriye alınır. Bu işlem vitamin B₁₂'yi vücudun hücrelerine iletir ve vitamini DNA sentezi gibi elzem hücresel işlevler için bir koenzim olarak sağlar.






HoloTC'nin dolaşımdaki yarı ömrü HoloHC'den daha kısa olduğunda negatif bir vitamin B₁₂ dengesine girildiğinde görülecek en erken değişiklik muhtemelen serum HoloTC konsantrasyonunda bir azalmadır¹.


Total Serum B₁₂ ölçümünün bazı sınırlamaları vardır; özellikle ölçülen kobalaminin çoğu biyolojik açıdan inert olan HC'ye bağlıdır. Yayımlanmış birkaç çalışma HoloTC'nin vitamin B₁₂ durumu açısından Total Serum B₁₂'den daha iyi bir gösterge olacağı sonucuna varmıştır^{2,3}. Beklendiği şekilde, HoloTC düzeyleri vitamin B₁₂ eksikliğini biyokimyasal bulguları olan hastalarda düşüktür⁴. Düşük değerler vejeteryenler⁵, veganlar⁶, vitamin B₁₂ alımı düşük olan popülasyonlarda⁷ bildirilmiştir. Özellikle, sağlıklı bir kontrol grubuyla karşılaştırıldığında bir Alzheimer hastalığı grubundaki hastalarda HoloTC düzeyleri düşüken serumda Total B₁₂ düzeylerinin düşük olmaması dikkat çekmiştir⁸. HoloTC düzeyleri vitaminin yakın zamanlı emiliminden bağımsız olarak vitamin B₁₂ durumunu yansıtır⁹.

TEST PRENSİBİ

Mikrotitre kuyucukları Active-B12 (Holotranscobalamin) için yüksek ölçüde spesifik monoklonal bir antikorla kaplıdır. İlk inkübasyon sırasında serumdaki holotranskobalamin spesifik olarak antikor kaplı yüzeye bağlanır. İkinci inkübasyonda Konjugat herhangi bir yakalanmış holotranskobalamin bağlanır. Daha sonra, bağlanmayan bileşenlerin atılması için kuyucuklar yıkanır. Bağlanmış holotranskobalamin Substrat ile inkübasyon yoluyla saptanır. Stop Solüsyonunun eklenmesi reaksiyonu sonlandırır ve renkli bir son ürünle sonuçlanır. Holotranskobalamin konsantrasyonu pmol/L olarak doğrudan oluşan renkle ilişkilidir ve Kalibratörlere bağlı bir doz yanıtı eğrisinden interpolasyonla tahmin edilebilir.

KİT BİLEŞENLERİ

CONJ	1 x 15 mL	Protein stabilizatörüyle Tris tamponunda insan transkobalaminine alkalen fosfat etiketli murin monoklonal antikor. Koruyucu madde: < %0,1 (a/h) sodyum azit. Kullanıma hazır.	
SUBS	1 x 15 mL	para-NitroFenil Fosfat (pNPP), tampon solüsyonu. Kullanıma hazır. Işıktan uzakta muhafaza edin. UYARI	 
SOLN STOP	1 x 15 mL	1M Sodyum hidroksit, (pH >10). Kullanıma hazır. TEHLİKE	
BUF WASH 8X	2 x 25 mL	Fosfat tamponu. Koruyucu madde: %0,72 (a/h) sodyum azit. Kullanmadan önce seyreltin. UYARI	
MTP 8X12	12 x 8 kuyucuklu mikrotitre (ayrılabilir) strip	Kurutuculu açılıp kapanabilir folyo ambalajda anti-holotranskobalamin murin monoklonal antikor kaplı.	
CAL A - CAL F	6 x 1.0 mL	Cal A protein (bovin) stabilizatörlü bir fosfat tamponudur. Koruyucu madde: < %0,1 (a/h) sodyum azit. Cal B-F HoloTC içeren protein (bovin) stabilizatörlü fosfat tamponlarıdır. Koruyucu madde: < %0,1 (a/h) sodyum azit. Kullanıma hazır. Saklama sırasında ışığa maruz bırakmayın. KONSANTRASYONLAR İÇİN FLAKON ETİKETLERİNE BAKIN.	

CONTROL L	1 x 1.0 mL	HoloTC içeren protein (bovin) stabilizatörlü fosfat tamponu. Koruyucu madde: < %0,1 (a/h) sodyum azit. Kullanıma hazır. Saklama sırasında ışığa maruz bırakmayın.	
CONTROL H	1 x 1.0 mL		
PRE-TREATMENT	1 x 25 mL	Sitrat tamponu. Koruyucu madde: < %0,1 (a/h) sodyum azit. Kullanıma hazır.	

STANDARDİZASYON

Standardizasyon için uluslararası tanınan bir referans yöntemi veya referans materyali şu anda yoktur. Axis-Shield Active-B12 (HoloTranskobalamin) Kalibratörleri tek sefer değer tahsisi yapılmış olan dahili referans standartlarına göre izlenebilir.

REAKTİFLERİN MUHAFAZASI

Açılan (Kullanımda) Kit Stabilitesi

Bir kit açılarak üç aylık bir süre içinde üç kez yeniden kullanılmış, kit performansında hiçbir olumsuz etki görülmemiştir. Kullanım sonrasında, bileşenler 2-8°C'de saklamaya tekrar konmalıdır.

Açılmamış kit stabilitesi

Açılmamış bileşenler 2-8°C'de etikette belirtilen tarihe kadar stabildir.

Kullanım ve Prosedüre İlişkin Notlar

1. Kit bileşenlerini 2-8°C sıcaklıkta muhafaza edin ve etiketlerdeki son kullanma tarihine kadar kullanın. Süresi dolmuş reaktifleri kullanmayın.
2. Her reaktif ve kalibratör lotu doğru reaksiyonu oluşturmak üzere standardize edilmiştir. Lotlar arasında reaktif veya kalibratör değişimi yapmayın.
3. Kalibratör konsantrasyonları flakon etiketlerinde gösterilmiştir ve lotlar arasında farklılık gösterebilir.
4. Kitleri dondurmayın.
5. Yıkama Tamponu Konsantresi kullanımdan önce seyreltilmelidir. Diğer tüm reaktifler kullanıma hazırdır.
6. Seyreltilmiş Yıkama Tamponu mikrobiyal kontaminasyondan kaçınılırsa en az 3 ay stabildir. Her kullanımdan sonra tekrar 2-8°C'de saklamaya koyun.
7. Artık (kullanılmamış) mikrotitre stripleri kurutuculu folyo ambalaja geri koyun. Ambalaj mührünün bozulmadığından emin olun ve ihtiyaç duyulana kadar yeniden 2-8°C sıcaklıkta muhafaza edin.
8. Kalibratörler, Kontroller veya Substratı saklama sırasında ışığa maruz bırakmayın.
9. Reaktifleri kontaminasyondan koruyun. Her bir reaktif veya numune manipülasyonu için yeni bir tek kullanımlık pipet kullanın.

Bozulma Göstergeleri

Substrat, renksiz ile çok uçuk sarı renk arasında olmalıdır. Daha koyu sarı renk kontaminasyona işaret eder ve reaktifin atılması gerekir. Herhangi bir bileşende turbidite veya presipitasyon, bozulma göstergesidir ve bileşen atılmalıdır.

Numune Alma ve Muhafaza Etme

1. Test insan serumu için önerilir (serum ayırıcı tüpleri dahil).
2. Ağır derecede hemolize veya bulanık numuneleri kullanmayın.
3. Buzu çözülmüş numuneleri test öncesinde iyice karıştırın ve süreli dondurup çözmekten kaçının.
4. Numunelere 3 dondurma/çözme döngüsü yapılabilir. Dondurulmuş numuneler test öncesinde 5 dakika boyunca ≥ 10.000 g hızında santrifüje edilmelidir.
5. Pıhtılı veya pıhtısız numuneleri gece boyunca sürelerden (≤ 16 saat) daha uzun süre oda sıcaklığı üzerindeki sıcaklığa maruz bırakmayın.
6. Numuneler 2-8°C'de pıhtılı 3 güne kadar ve pıhtısız dört haftaya kadar saklanabilir; daha uzun saklama için numuneler pıhtısız -20°C'de 6 aya kadar saklanabilir.
7. Her numuneyi test öncesinde Numuneye eşit hacimde Ön Muamele solüsyonu ekleyerek hazırlayın, örn. 150µL örnek artı 150µL Ön Muamele solüsyonu. Önceden muamele edilmiş numuneler kapağı kapatılmış olarak test öncesinde 2-8°C'de 24 saate kadar saklanabilir.



UYARILAR VE ÖNLEMLER

Yalnızca *in vitro* tanı amaçlı kullanım içindir. **Güvenlik Önlemleri**

1. Başta kullanım ve muhafaza koşullarına ilişkin olanlar olmak üzere, bu kitapçıktaki talimatlara kesin olarak uyun.
2. Ağızdan pipetlemeyin.
3. Kitler ve numunelerin kullanıldığı alanlarda sigara içmeyin, herhangi bir şey yiyip içmeyin ve kozmetik malzemesi kullanmayın.
4. Her türlü cilt şikayeti, kesik, sıyrık ve diğer cilt lezyonları uygun şekilde korunmalıdır.
5. Kalibratörler, Kontroller, Konjugat, Ön Muamele Solüsyonu ve Yıkama Tamponu Konsantresi, kurşun ve bakır borularla reaksiyona girerek son derece patlayıcı metal azitler oluşturabilen sodyum azit içermektedir. Bunları atarken, azit birikimini önlemek için çok miktarda suyla birlikte akıtın.
6. Stop Solüsyonu sodyum hidroksit içerir. Cilt, gözler ve müköz membranlarla temasından kaçının. Döküntü bol miktarda suyla silinmelidir. Cilt veya gözlerle temas olursa, suyla yıkayın ve hemen tıbbi yardım isteyin.

7. Bu kitin içerdiği tüm zararlı bileşenler için materyal güvenlik veri tabloları, talep halinde Axis-Shield Diagnostics'ten alınabilir.
8. Bu ürün insan ve hayvan kökenli numuneler ve materyallerin kullanımını gerektirir. Tüm insan ve hayvan materyallerinin enfeksiyöz olabileceğinin düşünülmesi ve OSHA Kanla Taşınan Patojenler Biyogüvenlik Düzeyi 2 Standardı ile uyumlu olarak kullanılması önerilir veya enfeksiyöz ajanlar içeren veya içerdiğinden şüphelenilen materyal için diğer uygun biyogüvenlik uygulamaları kullanılmalıdır.

Dikkat: Federal yasalar bu cihazın satışını bir doktor tarafından ya da doktorun siparişi üzerine satış ile sınırlar.

 Tehlike	Stop Solüsyonu	<p>UYARI H314 – ÖNLEME P264 – P280 – YANIT P305+351+338 -</p>	<p>Ciddi derecede deri yanıkları ve göz hasarına neden olur.</p> <p>Kullandıktan sonra iyice ellerinizi yıkayın. Koruyucu eldiven/koruyucu giysi/göz koruması/yüz koruyucusu kullanın.</p> <p>GÖZE GELMESİ HALİNDE: Birkaç dakika iyice suyla durulayınız. Mevcut ve kolay ise kontak lensleri çıkarın. Durulama devam edin.</p>
 Uyarı	Substrat	<p>UYARI H302 – H312 – H332 – ÖNLEME P260 – P271 – P280 – YANIT P301+310 – P304+340 – P312 -</p>	<p>Yutulması halinde zararlıdır. Cilt ile temasında sağlığa zararlıdır. Solunması halinde zararlıdır.</p> <p>Toz/duman/gaz/sis teneffüs etmeyiniz/buharlar sprey. Sadece açık havada ya da iyi havalandırılan yerlerde kullanın. Koruyucu eldiven/koruyucu giysi/göz koruması/yüz koruyucusu kullanın.</p> <p>YUTULURSA: Derhal bir ZEHİR MERKEZİ veya doktora / hekime başvurun. SOLUNMASI HALİNDE: Kazazedeyi açık havaya çıkarın ve nefes alabilmesi için rahat bir pozisyonda tutun. Kendinizi iyi hissetmiyorsanız bir ZEHİR MERKEZİ veya doktora / hekime başvurun.</p>
	Yıkama Tamponu (8X)	<p>UYARI H302 – H412 – EUH032 – ÖNLEME P264 – P270 – P273 – YANIT P301+310 – P330 -</p>	<p>Yutulması halinde zararlıdır. Uzun süreli etkilerle sudaki yaşam için zararlıdır. Asitlerle temasında çok toksik gaz çıkarır.</p> <p>Kullandıktan sonra iyice ellerinizi yıkayın. Bu ürünü kullanırken, içecek veya sigara yemeyin. Çevreye salmaktan kaçının.</p> <p>YUTULURSA: Derhal bir ZEHİR MERKEZİ veya doktora / hekime başvurun. durulama Ağız</p>

H A Z I R L A N M A S I

Gerekli Olup Sağlanmayan Materyaller/Ekipman

1. 405 nm filtrelili 96 kuyucuklu plaka/strip okuyucu.
2. 100 µL dağıtmak için kesin pipet(ler). Manuel yıkama için yaklaşık 250-300 µL dağıtmak üzere 8 kanallı bir dispenser veya benzeri (örneğin Tricontinent'tan StatMatic 8-kanallı dispenser).
3. Cam/plastik ölçüm silindiri 1x200 mL.
4. Distile/deiyonize su.
5. Kağıt havlu.
6. 30, 35 ve 60 dakikalık süreler için zamanlayıcı.

Testin Hazırlanması

Mikrotitre stripler dahil olmak üzere tüm kit bileşenlerini kullanmadan önce 30-60 dakika boyunca 18-25°C sıcaklığa gelene kadar ısınmasını sağlayın. Reaktifleri hafifçe ters çevirerek karıştırın.

2-8°C'de saklandığında yıkama tamponu presipitasyon gösterir (kristaller görünür olabilir). Suda seyreltmeden önce yıkama tamponununun çıplak gözle presipitasyon **GÖRÜNMEYİNCEYE** kadar ısınmasını bekleyin (gerekirse işlemi hızlandırmak üzere 37°C'de bir inkübatöre yerleştirilebilir).

Aşağıdaki reaktif seyreltin ve iyice karıştırın.

Reaktif	Hacim	Ekleyin
Yıkama Tamponu Konsantresi x 8	1 şişe	175 mL distile/deiyonize su

Geçerli test için gereken mikrotitre strip sayısını hesaplayın ve bunları mikrotitre strip tutucuya yerleştirin. Kalan stripleri kurutuculu açılıp kapanabilir folyo ambalaja geri koyarak ihtiyaç duyulana kadar 2-8°C sıcaklıkta muhafaza edin. Tüm striplerin mikrotitre strip tutucuya tam olarak oturduğundan emin olun. Kullanıcılar, isterse tespit edilmelerini kolaylaştırmak için striplerin her birini üst köşesinden numaralandırabilir. Mikrotitre strip tutucuyu sonra tekrar kullanmak üzere saklayın.

Her numuneyi test öncesinde numuneye eşit hacimde Ön Muamele solüsyonu ekleyerek hazırlayın, örn. 150 µL örnek artı 150 µL Ön Muamele solüsyonu. Önceden muamele edilmiş numuneler kapağı kapatılmış olarak test öncesinde 2-8°C'de 24 saate kadar saklanabilir.

TEST PROTOKOLÜ

1. Kuyucukları tespit etmek için referans hazırlayın.
2. 100 µL Kalibratörleri ikili olarak, Kit Kontrollerini ikili olarak ve önceden muamele edilmiş (50:50) hasta numunelerini ikili olarak uygun kuyulara pipetleyin. Ekleme işlemleri arasında pipet uçlarını değiştirmeyi unutmayın. Bu basamağın 15 dakikayı geçmemesi beklenir.
3. 18-25°C sıcaklıkta 60±10 dakika inkübe edin.
4. Biyolojik maddelerin atılmasına uygun bir evyeye strip içeriğini boşaltın; numunelerin potansiyel enfeksiyon tehlikesini aklınızdan çıkarmayın. Ters çevrilen stripleri kağıt havlularla iyice kurulayın. **Yıkamayın.**
5. Her bir kuyucuğa 100 µL Konjuat ekleyin.
6. 18-25°C sıcaklıkta 35±5 dakika inkübe edin.
7. Biyolojik maddelerin atılmasına uygun bir evyeye strip içeriğini boşaltın. Ters çevrilen stripleri kağıt havlularla iyice kurulayın.
8. Kuyucukları en az 250 µL seyreltik Yıkama Tamponuyla **beş kez** yıkayın. **Her yıkama adımından sonra boşaltın ve kurulayın.**
9. Her bir kuyucuğa 100 µL Substrat ekleyin.
10. 18-25°C sıcaklıkta 30±5 dakika inkübe edin. **Boşaltmayın.**
11. Her bir kuyucuğa Substrat ekleme sırasıyla ve hızıyla 100 µL Stop Solüsyonu ekleyin. Karıştırmak üzere kuyulara parmağınızla yavaşça vurun.
12. Stripleri 405 nm değerinde okuyun. Stop Solüsyonunun eklenmesinden sonra 120 dakika içinde okuyun.

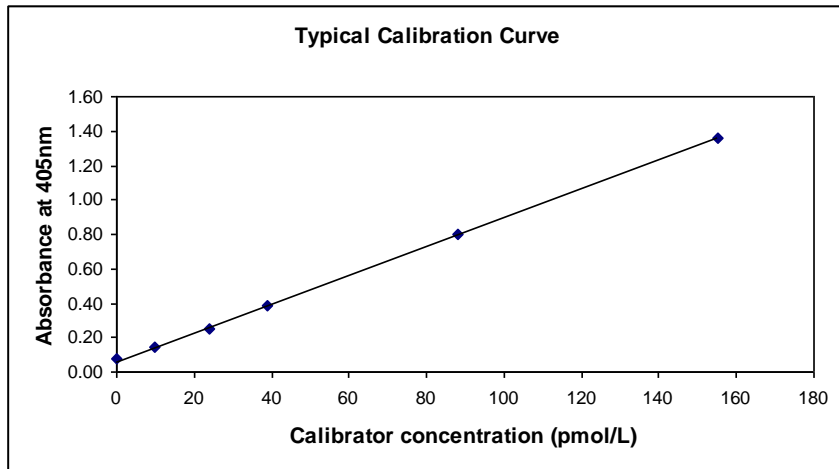
SONUÇLARIN HESAPLANMASI VE YORUMLANMASI

Her Kalibratörün ortalama absorbans değerini y eksenine x ekseninde pmol/L olarak karşılık gelen konsantrasyona göre koyarak plotlayın.

KALİBRATÖR KONSANTRASYONLARI FLAKON ETİKETLERİNDE GÖRÜNTÜLENİR. KONSANTRASYON DEĞERLERİ HER KALİBRATÖR LOTUNA TAHSİS EDİLMİŞTİR VE LOTLAR ARASINDA FARKLI OLABİLİR.

Her numunenin konsantrasyonu (pmol/L) ortalama numune absorbans değerine karşılık gelen eğrideki noktayı bularak ve karşılık gelen konsantrasyonu x ekseninden pmol/L olarak okuyarak hesaplanabilir. Bu işlem grafik kağıdı kullanılarak manuel olarak veya eğri uyumu işlemleri içeren yazılım ile bir plaka okuyucu kullanılarak yapılabilir. Dahili yazılım bulunan bir plaka okuyucu kullanıyorsanız **bir lineer regresyon eğri uyumu algoritması** kullanılmalıdır.

Aşağıda referans amacıyla tipik bir kalibrasyon plotu gösterilmektedir ve Sonuçları yorumlamak için kullanılmamalıdır. Konsantrasyonları >128pmol/L üzerinde olan numuneler test aralığı dışındadır ve 128 pmol/L olarak kaydedilmeli ve sonuçlar için ekstrapolasyon yapılmamalıdır. %20 altında sapma gösteren ayrı numune kopyaları testin kabul edilebilirliğini gösterecek şekilde ele alınabilir.



SONUÇLAR

Ölçüm Birimi

Axis-Shield Active-B12 (Holotranskobalamin) testi için ölçüm birimi pmol/L şeklindedir.

Ölçüm Aralığı (Bildirilebilir Aralık)

Testin ölçülebilir aralığı 10 pmol/L ila 128 pmol/L şeklindedir.

KALİTE KONTROLÜ

Plaka okuyucunun bakımı ve kalibrasyonunun üreticinin talimatlarına uygun şekilde yeterli düzeyde gerçekleştirilmesini ve doğru dalga boyunun (405 nm) ve eğri uyumu algoritması (lineer regresyon) uygulanmasını sağlayın.

Kullanıcılar, test talimatlarını, özellikle Uyarılar ve Önlemler bölümüyle Kullanım ve Prosedüre İlişkin Notları tamamen anladığından emin olmalıdır. Kullanıcılar, hasta test sonuçlarını bildirmeden önce, kesinlik ve raporlanabilir test sonuçları aralığı için üretici tarafından belirlenenlerle karşılaştırılabilir şekilde performans spesifikasyonlarını sağlayabildiklerini kanıtlamalıdır. Kullanıma hazır Düşük ve Yüksek Kit Kontrolleri test işleminin kalitesini izlemek üzere tüm testlerde ikili olarak çalışılmalıdır.

Üretici tarafından açıklanan kesinlik spesifikasyonlarının yerine getirildiği kabul edilirse, herhangi bir Kontrolün aşağıdaki Kontrol spesifikasyonlarını yerine getirememesi, testi geçersiz kılar ve hasta sonuçlarının bildirilmemesi gerekir. Operatör, prosedürü gözden geçirerek testi tekrarlayabilir veya distribütör/üretici ile bağlantı kurabilir. Testi tekrarladığınız takdirde, her bir numune için yeni bir seyreltik hazırlayın. Laboratuvarlar, her test işlemine kendi hazırladıkları kontrolleri dahil edebilir. Bu tür kontrol materyalini -20°C'de veya altında depolayın ve dondurma/eritme döngüsünü tekrar etmekten kaçının. %0,1'deki (ağırlıkça yüzde) sodyum azit gibi koruyucular, numune sonuçlarını etkilemez.

Referans aralıkları ve uygun kesme noktaları kullanıcıların hizmet verdiği spesifik popülasyonlar için hesaplanmalıdır.

Kontrol Spesifikasyonları

	Düşük	Yüksek
Spesifikasyon (ikilinin ortalaması)	15 - 35 pmol/L	36 - 84 pmol/L

BEKLENEN DEĞERLER

Yaş aralığı 18-75 olan yaklaşık olarak eşit sayıda erkek [n = 65] ve kadından [n = 70] oluşan görünüşte sağlıklı asemptomatik donörlerden alınan 135 serum numunesi, Axis-Shield Active-B12 (Holotranscobalamin) EIA ile test edilmiştir.

Genel ortalama Active-B12 (Holotranscobalamin) konsantrasyonu bu popülasyon için 72 pmol/L (aralık 15 - 147 pmol/L) olmuştur.

Bu referans popülasyonu verileri temelinde, referans aralığı (sonuçların oran %95'i) şöyledir:

Referans Aralığı
21 – 123 pmol/L

Bu referans aralığı, yalnızca kılavuz olarak önerilmektedir ve her laboratuvar, coğrafi faktörlerle hasta, beslenme, çevre faktörlerine veya klinik uygulamaya bağlı olarak hizmet ettiği popülasyona özgü olabilecek bir referans aralığı belirlemelidir.

PERFORMANS VERİLERİ

Temsili veriler; ayrı laboratuvarların sonuçları değişkenlik gösterebilir.

Seyreltme Doğrusallığı

CLSI belgesi EP6-A¹⁰ rehberliğinde gerçekleştirilen bir çalışmaya dayanarak Axis-Shield Active-B12 (Holotranscobalamin) EIA 5,3 ila 156,0 pmol/L arasında doğrusallık sergilemiştir. (

Doğruluk

Sağlıklı görünen yetişkinlerden serum numuneleriyle bir korelasyon çalışması yapılmıştır. Tüm örnekler Axis-Shield Active-B12 (Holotranscobalamin) EIA ve bir ticari olarak sağlanan Holotranscobalamin testiyle CLSI belgesi EP9-A2¹¹ uyarınca analiz edilmiştir. Örnek konsantrasyonları 13,8 ile 112,8 pmol/L aralığını vermiştir. Elde edilen veriler şu istatistiksel değerleri sağlamıştır:

Axis-Shield Active-B12 (Holotranscobalamin) EIA ve bir ticari olarak sağlanan test	
Numune sayısı	111
Regresyon çizgisinin eğimi (Passing-Bablok regresyonu) (%95 GA)	0,95 (0,89 - 1,01)
Y-kesişimi (Passing-Bablok regresyonu) (%95 GA)	8,39 (5,73 - 11,77)
Korelasyon katsayısı (r) (Pearson) (%95 GA)	0,93 (0,90 - 0,95)

Keskinlik

7 insan serum numunesi 3 reaktif lotu kullanılarak Axis-Shield ile test edilmiştir. Örnekler 2 kullanıcı tarafından 5 gün boyunca günde bir kez 8 replikat halinde test edilmiştir (toplam n = 80). Bu çalışmadan elde edilen veriler aşağıdaki tabloda özetlenmiştir:

Numune	n	Lot	Kullanıcı	Ortalama (pmol/L)	Test içi %CV	Toplam %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
Düşük Kontrol	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
Yüksek Kontrol	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

Boş Siniri

Temsili bir çalışmada Boş Sınırı saptamaları iki düşük düzey holotranskobalamin örneği ve iki reaktif lotu (reaktif lotu başına 120 replikat) kullanılarak yapılmıştır. Axis-Shield Active-B12 (Holotranskobalamin) EIA boş sınırı 4,9 pmol/L bulunmuştur (virgülden sonra 1 haneye yuvarlanmış).

Saptama Siniri

Temsili bir çalışmada Saptama Sınırı saptamaları beş düşük düzey holotranskobalamin örneği ve iki reaktif lotu (reaktif lotu başına 120 replikat) kullanılarak yapılmıştır. Axis-Shield Active-B12 (Holotranskobalamin) EIA boş sınırı 8,1 pmol/L bulunmuştur (virgülden sonra 1 haneye yuvarlanmış).

Kantifikasyon Siniri

Kantifikasyon belirlemeleri sınırı saptamaları beş düşük düzey holotranskobalamin örneği ve iki reaktif lotu (reaktif lotu başına 120 replikat) kullanılarak yapılmıştır. Axis-Shield Active-B12 (Holotranskobalamin) EIA kantifikasyon sınırı 8,3 pmol/L bulunmuştur (virgülden sonra 1 haneye yuvarlanmış).

Yüksek Doz Kanca

Yüksek doz kanca, testin dinamik aralığında çok yüksek numunelerin okunabileceği bir fenomendir. Axis-Shield Active-B12 (Holotranskobalamin) EIA için: Yaklaşık 419 ve 2236 pmol/L konsantrasyonlu iki numuneyle yüksek doz kanca etkisi saptanmamıştır.

Çapraz reaksiyon

Axis-Shield Active-B12 (Holotranskobalamin) EIA apotranskobalamin veya haptokorrin varlığında \leq %10 holotranskobalamin konsantrasyonu maksimum sapmasını gösterecek şekilde tasarlanmıştır.

Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü (CLSI) belgesi EP7-A2¹² rehberliğinde bir çalışma gerçekleştirilmiştir.

Holotranskobalamin düzeyleri test aralığında olan üç numuneye 500 pmol/L apotranskobalamin veya 5000 pmol/L haptokorrin eklenmiştir. Holotranskobalamin konsantrasyonundaki maksimum sapma %-5 ile %1 arasında değişmiştir.

Enterferans

Axis-Shield Active-B12 (Holo-transkobalamin) EIA potansiyel olarak enterferans kaynağı bileşenler varlığında ≤%10 holo-transkobalamin konsantrasyonu maksimum sapmasını gösterecek şekilde tasarlanmıştır.






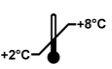

Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü (CLSI) belgesi EP7-A2¹² rehberliğinde bir çalışma gerçekleştirilmiştir. Holo-transkobalamin düzeyleri bulunan altı numuneye, aşağıdaki tabloda belirtilen potansiyel enterferans kaynağı bileşikler eklenmiştir. Holo-transkobalamin konsantrasyonundaki maksimum sapma %-10 ile %8 arasında değişmiştir.

Potansiyel Enterferans Kaynağı Madde	Aşağıdaki konsantrasyona kadar hiçbir enterferans bulunmamıştır
Hemoglobin	500 mg/dL
Bilirubin	30 mg/dL
Trigliserid (İntralipid Solüsyon)	3000 mg/dL
Romatoid Faktör	7500 IU/dL
Total Protein	9000 mg/dL

REFERANSLAR

1. Nexo E. Hvas A-M. Bleie Ø *et al.* Holo-transkobalamin 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-transkobalamin, 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-transkobalamin, 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-transkobalamin, 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-transkobalamin 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-transkobalamin 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-transkobalamin. *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-transkobalamin 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.

SEMBOLLER İÇİN ANAHTAR

IVD	<i>In vitro</i> diagnostik medikal cihaz	CONTROL L	Düşük Kontrol
REF	Katalog numarası	CONTROL H	Yüksek Kontrol
LOT	Lot	CONJ	Konjugat
	96 test	SUBS	Substrat
	Dikkat	SOLN STOP	Stop Solüsyonu
	Kullanım talimatlarına bakın	PRE-TREATMENT	Ön Muamele
	Işıktan Koruyun	BUF WASH 8X	Yıkama Tamponu
	Son kullanma tarihi	MTP 8 x 12	Microtitre (Ayrılabilir) Stripler
	2-8°C sıcaklıkta muhafaza edin	CAL A - CAL F	Kalibratör A - F
Rx Only	Sadece Reçeteli Olarak Kullanılabilir		Üretici



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: 2016/07