

**BIOHIT HealthCare**

Innovating for Health



**BIOHIT ACTIVE B12  
(HOLOTRANSCOBALAMIN)**

**POKYNY K POUŽITÍ**

**REF** 602 290

**IVD**

**CE**

For *in vitro* diagnostic use  
Store at 2-8 °C Upon Receipt

**Biohit Oyj** Laippatie 1, FI-00880 Helsinki, Finland  
Tel. +358 9 773 861, [info@biohit.fi](mailto:info@biohit.fi), [www.biohithealthcare.com](http://www.biohithealthcare.com)

1. URČENÉ POUŽITÍ .....	4
2. ÚVOD.....	4
3. PRINCIP TESTU.....	4
4. VÝSTRAHY A UPOZORNĚNÍ .....	5
5. OBSAH SOUPRAVY .....	6
5.1 Roztok konjugátu.....	6
5.2 Roztok substrátu .....	6
5.3 Neutralizační roztok.....	7
5.4 Koncentrát promývacího pufru .....	7
5.5 Mikrotitrační destička .....	7
5.6 Blank roztok .....	7
5.7 Kalibrátory .....	7
5.8 Kontroly.....	7
5.9 Roztok pro předběžné zpracování.....	7
5.10 Pokyny k použití .....	7
6. POTŘEBNÉ MATERIÁLY/VYBAVENÍ, KTERÉ SE NEDODÁVÁ .....	8
7. STANDARDIZACE .....	8
8. UCHOVÁVÁNÍ A STABILITA.....	8
8.1 Stabilita otevřené soupravy .....	8
8.2 Stabilita neotevřené soupravy.....	8
8.3 Zacházení se soupravou a procedurální poznámky.....	8
8.4 Indikace deteriorizace.....	9
9. SBĚR VZORKŮ A UCHOVÁVÁNÍ .....	9
10. PROVEDENÍ TESTU.....	9
10.1 Příprava .....	9
10.2 Protokol testu.....	10
11. VÝSLEDKY .....	10
11.1. Výpočet a interpretace .....	10
11.2 Kontrola kvality .....	11

11.3 Očekávané hodnoty.....	12
12. ÚDAJE O ÚČINNOSTI .....	12
12.1 Linearita ředění .....	12
12.2 Správnost.....	12
12.3 Přesnost .....	13
12.4 Limit blanku.....	14
12.5 Limit detekce.....	15
12.6 Kvantitativní limit .....	15
12.7 Snížení signálu při měření (High Dose Hook).....	15
12.8 Křížová reaktivita.....	15
12.9 Interference.....	15
13. ZÁRUKA .....	16
14. INFORMACE K OBJEDNÁVÁNÍ .....	16
15. DATUM VYDÁNÍ .....	16
16. REFERENCE.....	17

## 1. URČENÉ POUŽITÍ

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

## 2. ÚVOD

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

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

HoloTC má v krevním oběhu v porovnání s HoloHC kratší biologický poločas, a proto je pokles sérové koncentrace HoloTC jednou z nejčasnějších změn při negativní rovnováze vitamínu B12<sup>1</sup>.

Měření celkového B12 v séru má určitá omezení, zejména proto, že většina naměřeného kobalaminu představuje kobalamin navázaný na biologicky inertní HC. Byla publikována řada studií podporující tvrzení, že HoloTC je lepším indikátorem stavu vitamínu B12 než celkový sérový B12<sup>2,3</sup>. Podle očekávání jsou hladiny HoloTC nízké u pacientů s biochemickými příznaky nedostatku vitamínu B12<sup>4</sup>.

Nízké hodnoty byly pozorovány u vegetariánů<sup>5</sup>, veganů<sup>6</sup> a u populací s nízkým příjmem vitamínu B12<sup>7</sup>. Významně nízké hodnoty HoloTC, nikoli však celkového B12 v séru byly naměřeny u pacientů s Alzheimerovou chorobou ve srovnání s kontrolní skupinou zdravých jedinců<sup>8</sup>. Hladiny HoloTC odpovídají stavu vitamínu B12 a nejsou ovlivněny jeho nedávným příjmem<sup>9</sup>.



## 3. PRINCIP TESTU

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

## 4. VÝSTRAHY A UPOZORNĚNÍ

### **Pouze k diagnostice *in vitro*. Bezpečnostní opatření**

1. Držte se striktně pokynů v této příručce, zejména v části manipulace a podmínky uchovávání.
2. Nepipetujte ústy.
3. Nekuřte, nejezte, nepijte ani neaplikujte kosmetické přípravky v prostorách, kde se manipuluje se soupravami a činidly.
4. Jakákoli poškození kůže, jako například oděrky, říznutí a další kožní léze je třeba vhodně ochránit.
5. Kalibrátory, kontroly, konjugát, roztok k předběžnému zpracování a koncentrát promývacího pufru obsahují azid sodný, který může reagovat s olovem a mědí v potrubí a vytvářet vysoce explozivní azidy kovů. Při likvidaci splachujte velkým množstvím vody, aby nedocházelo k usazeninám azidu.
6. Neutralizační roztok obsahuje hydroxid sodný. Zamezte styku s kůží, očima a sliznicemi. V případě rozlití je třeba vytřít vydatným množstvím vody. Při zasažení kůže nebo očí okamžitě důkladně vypláchněte vodou a vyhledejte lékařskou pomoc.
7. Bezpečnostní materiálové listy pro všechny komponenty obsažené v této soupravě jsou k dispozici na vyžádání ve společnosti Biohit Oyj.
8. S tímto výrobkem se musí zacházet jako se vzorky a materiály lidského a živočišného původu. Doporučuje se, aby všechny lidské a zvířecí zdrojové materiály byly považovány za potencionálně infekční a aby se s nimi zacházelo v souladu se standardem OSHA, stupeň biologické ochrany 2, krevní patogeny nebo s jinými vhodnými postupy biologické ochrany při práci s materiály, které obsahují nebo se předpokládá, že obsahují infekční látky.

 <b>ŽÍRAVÝ</b>	Neutralizační roztok	H314 P264 P280 P305+351 +338	Způsobuje těžké poleptání kůže a poškození očí. Po manipulaci důkladně omyjte. Používejte ochranné rukavice/ochranný oděv/ochranné brýle/obličejový štít. PŘI ZASAŽENÍ OČÍ: Několik minut opatrně vyplachujte vodou. Vyjměte kontaktní čočky, jsou-li nasazeny a pokud je lze vyjmout snadno. Pokračujte ve vyplachování.
 <b>ŠKODLIVÝ</b>	Substrát	H302+312 +332 P260 P271 P280 P301+310 P304+340 P312	Zdraví škodlivý při požití, při styku s kůží a při vdechování. Nevdechujte prach/dým/plyn/mlhu/páry/aerosoly. Používejte pouze venku nebo v dobře větraných prostorách. Používejte ochranné rukavice/ochranný oděv/ochranné brýle/obličejový štít. PŘI POŽITÍ: Okamžitě volejte TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÍ STŘEDISKO/lékaře. PŘI VDECHNUTÍ: Přeneste osobu na čerstvý vzduch a ponechte ji v poloze usnadňující dýchání. Necítíte-li se dobře, volejte TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÍ STŘEDISKO/lékaře.
	Koncentrát promývacího pufru (8X)	H302 H412 EUH032 P264 P270 P273 P301+310 P330	Zdraví škodlivý při požití. Škodlivý pro vodní organismy, s dlouhodobými účinky. Uvolňuje vysoce toxický plyn při styku s kyselinami. Po manipulaci důkladně omyjte. Při používání tohoto výrobku nejezte, nepijte ani nekuřte. Zabraňte uvolnění do životního prostředí. PŘI POŽITÍ: Okamžitě volejte TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÍ STŘEDISKO/lékaře. Vypláchněte ústa.

## 5. OBSAH SOUPRAVY

### 5.1 Roztok konjugátu **CONJ**

Jedna 15mL ampulka obsahující alkalickou fosfatázou značenou myší monoklonální protilátku na lidský transkobalamin v Tris pufru s proteinovým stabilizátorem. Konzervační látka: < 0,1 % (w/v) azidu sodného. Připravena k použití.

### 5.2 Roztok substrátu **SUBS**



Jedna 15mL ampulka obsahující para-nitrofenyl fosfát (pNPP), pufrový roztok. Připravena k použití. Během skladování chraňte před světlem.

ŠKODLIVÝ N.B.

### 5.3 Neutralizační roztok **STOP**



Jedna 15mL ampulka obsahující 1M hydroxid sodný, (pH > 10).

Připravena k použití. ŽÍRAVÝ N.B.

### 5.4 Koncentrát promývacího pufru **WASH 8x**



Dvě 25mL ampulky obsahující fosfátový pufr. Konzervační látka: 0,72 % (w/v) azidu sodného.

Před použitím nařed'te. ŠKODLIVÝ N.B.

### 5.5 Mikrotitrační destička

12 × 8 jamek na mikrotitrových (odlomitelných) stripech potažených myší monoklonální protilátkou proti holotranskobalaminu, ve fóliovém, znovu uzavíratelném obalu s desikantem.

### 5.6 Blank roztok **BLANK**



Jedna 1mL ampulka obsahující fosfátový pufr s proteinovým (bovinním) stabilizátorem.

### 5.7 Kalibrátory **CAL 1-5**



Pět 1mL ampulek obsahujících fosfátový pufr s proteinovým (bovinním) stabilizátorem s obsahem HoloTC. Konzervační látka: < 0,1 % (w/v) azidu sodného. Připravena k použití. Během skladování chraňte před světlem. KONCENTRACE VIZ ŠTÍTEK NA AMPULCE.

### 5.8 Kontroly **CONTROL LOW CONTROL HIGH**



Jedna ampulka kontroly s nízkou hladinou a jedna ampulka kontroly s vysokou hladinou: 1mL fosfátového pufru s proteinovým (bovinním) stabilizátorem s obsahem HoloTC. Konzervační látka: < 0,1 % (w/v) azidu sodného. Připravena k použití. Během skladování chraňte před světlem.

### 5.9 Roztok pro předběžné zpracování **PRE**

Jedna 25mL ampulka obsahující citrátový pufr. Konzervační látka: < 0,1 % (w/v) azidu sodného. Připravena k použití.

### 5.10 Pokyny k použití

## 6. POTŘEBNÉ MATERIÁLY/VYBAVENÍ, KTERÉ SE NEDODÁVÁ

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

## 7. STANDARDIZACE

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

## 8. UCHOVÁVÁNÍ A STABILITA

### 8.1 Stabilita otevřené soupravy

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

### 8.2 Stabilita neotevřené soupravy

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

### 8.3 Zacházení se soupravou a procedurální poznámky

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



## 8.4 Indikace deteriorizace

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

## 9. SBĚR VZORKŮ A UCHOVÁVÁNÍ

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

## 10. PROVEDENÍ TESTU

### 10.1 Příprava

#### *Příprava k testu*

Před použitím nechejte všechny komponenty soupravy, včetně mikrotitrových stripů, zahřát na teplotu 18–25 °C po dobu 30–60 minut. Činidla jemným převrácením promíchejte.

Při skladování promývacího pufru při 2–8 °C může docházet k jeho srážení (mohou být vidět krystalky). Před naředěním promývacího pufru vodou ho nechejte ohřát (pokud potřebujete proces ohřívání urychlit, vložte ho do inkubátoru při 37 °C), až pouhým okem nejsou viditelné **ŽÁDNÉ** sraženiny.

Následující činidlo naředte a řádně promíchejte:

Činidlo	Množství	Přidat
Koncentrát promývacího pufru x 8 destilované/deionizované vody	1 ampulka	175 mL

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

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

## 10.2 Protokol testu

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

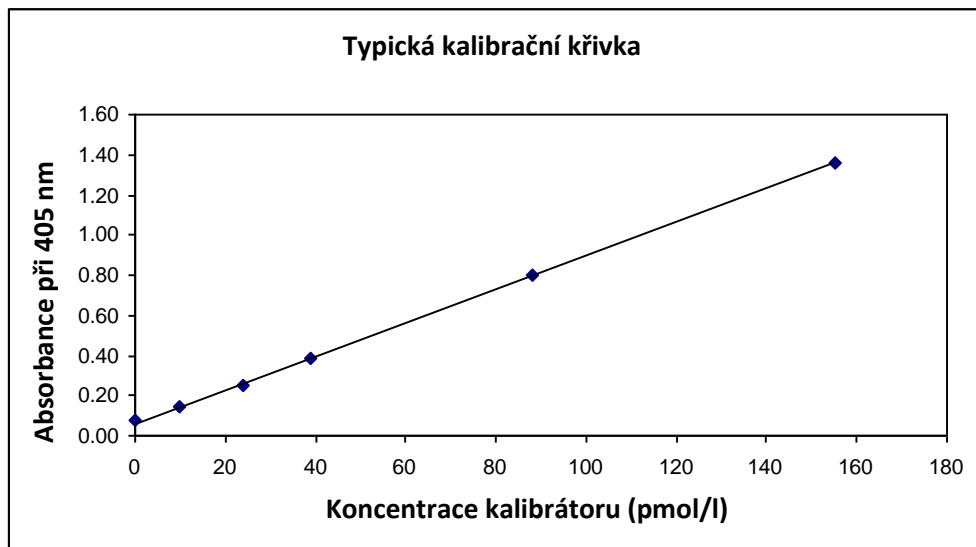
## 11. VÝSLEDKY

### 11.1. Výpočet a interpretace

Vyneste do grafu průměrnou hodnotu absorbance každého kalibrátoru na ose y vůči odpovídající koncentraci v pmol/L na ose x. **KONCENTRACE KALIBRÁTORŮ JSOU UVEDENY NA ŠTÍTCÍCH AMPULEK. HODNOTY KONCENTRACE JSOU PŘÍRAZENY KE KAŽDÉ ŠARŽI KALIBRÁTORU A MOHOU SE MEZI ŠARŽEMI LIŠIT.**

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

Typický graf kalibrační křivky (obrázek 1) je uveden pro referenční účely níže, k interpretaci výsledků se nesmí použít. Vzorky s koncentrací nad 128 pmol/L jsou mimo rozsah testu, a musí se hlásit jako > 128 pmol/L a výsledky se nesmí extrapolovat. Repliky individuálních vzorků odchylovající se o méně než 20 % mohou být považovány za indikátory přijatelnosti testu.



Obrázek 1. Typická kalibrační křivka testu BIOHIT Active B12 (Holotranscobalamin).

#### Jednotka měření

Jednotkou měření pro test BIOHIT Active B12 (Holotranscobalamin) je pmol/L.

#### Interval měření (Hlásitelné rozmezí)

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

## 11.2 Kontrola kvality

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

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

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

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

**Tabulka 1.** Specifikace pro kontroly s nízkou a vysokou hladinou.

Specifikace kontrol	Kontrola s nízkou hladinou	Kontrola s vysokou hladinou
Průměr duplikátu	15 až 35 pmol/L	36 až 84 pmol/L

### 11.3 Očekávané hodnoty

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

Celková průměrná koncentrace Active B12 (Holotranscobalamin) u této populace byla 72 pmol/L (rozmezí 15 až 147 pmol/L). Na základě těchto údajů referenční populace je referenční rozmezí (95 % výsledků):

Referenční rozmezí	21–123 pmol/L
--------------------	---------------

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

## 12. ÚDAJE O ÚČINNOSTI

Reprezentativní údaje, výsledky v jednotlivých laboratořích se mohou lišit.

### 12.1 Linearita ředění

Na základě studie provedené podle dokumentu CLSI EP6-A<sup>10</sup> prokázal test BIOHIT Active B12 (Holotranscobalamin) linearitu napříč rozmezím měření testu od 5,3 do 156,0 pmol/L (zaokrouhлено na 1 desetinné místo); výsledky se v jednotlivých laboratořích mohou od těchto údajů lišit.

### 12.2 Správnost

Byla provedena studie korelace se vzorky séra od zdravých dospělých dárců. Všechny vzorky byly analyzovány použitím testu BIOHIT Active B12 (Holotranscobalamin) EIA a komerčně dostupného testu pro holotranscobalamin v souladu s dokumentem CLSI EP9-A2<sup>11</sup>. Rozmezí koncentrací vzorků bylo v testu 13,8 až 112,8 pmol/L. Tabulka 2 ukazuje získané statistické hodnoty.

**Tabulka 2.** Test BIOHIT Active B12 (Holotranscobalamin) EIA oproti komerčně dostupnému testu.

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

### 12.3 Přesnost

Bylo testováno sedm (7) vzorků humánního séra za použití 3 šarží činidel. Vzorky testovali 2 technici v 8 replikách, jednou denně po dobu 5 dnů (celkem n = 80). Údaje z této studie jsou sumarizovány v tabulce 3.

**Tabulka 3.** Údaje o přesnosti.

Vzorek	n	Šarže	Technik	Průměr (pmol/L)	V rámci testu %CV	Celkem %CV
1 A	80	1	1	17.8	7.5%	8.2%
			2	17.5	3.1%	9.3%
		2	1	20.1	6.0%	6.6%
			2	20.3	6.9%	9.2%
		3	1	19.1	5.5%	8.0%
			2	18.9	8.5%	11.0%
2 A	80	1	1	21.8	5.5%	9.9%
			2	21.8	3.9%	7.5%
		2	1	22.6	5.6%	8.7%
			2	23.5	9.0%	10.3%
		3	1	23.9	7.0%	10.2%
			2	23.2	5.8%	8.9%
3 A	80	1	1	28.8	3.8%	7.8%
			2	30.7	4.3%	9.6%
		2	1	31.0	6.8%	8.0%
			2	31.4	4.3%	6.1%
		3	1	31.5	4.5%	6.4%
			2	32.2	4.0%	9.2%
4 A	80	1	1	49.3	3.9%	7.4%
			2	52.6	4.1%	6.7%
		2	1	50.8	5.6%	10.0%
			2	51.7	4.7%	5.9%
		3	1	52.6	4.6%	4.8%
			2	55.0	5.5%	6.1%
5 A	80	1	1	68.4	4.0%	7.6%
			2	73.2	3.7%	7.5%
		2	1	74.8	4.3%	8.2%
			2	75.9	4.6%	6.4%
		3	1	75.1	4.4%	7.9%
			2	76.3	4.9%	6.2%
7 A	80	1	1	115.9	4.2%	5.9%
			2	121.1	3.6%	7.0%
		2	1	123.2	4.3%	10.2%
			2	124.0	4.2%	6.4%
		3	1	127.0	4.8%	10.1%
			2	129.5	3.2%	5.6%
Kontrola s nízkou hladinou	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%
Kontrola s vysokou hladinou	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%

## 12.4 Limit blanku

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

## 12.5 Limit detekce

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

## 12.6 Kvantitativní limit

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

## 12.7 Snížení signálu při měření (High Dose Hook)

High dose hook je jev, kdy může dojít k odečtu vzorků s velmi vysokou úrovní uvnitř dynamického rozsahu testu. Pro test BIOHIT Active B12 (Holotranscobalamin) EIA nebyl detekován žádný jev high dose hook analyzováním dvou vzorků s koncentracemi přibližně 419 a 2 236 pmol/L.

## 12.8 Křížová reaktivita

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

Byla provedena studie podle dokumentu EP7-A2<sup>12</sup> institutu Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Tři vzorky s hladinami holotranskobalaminu přes celé spektrum rozsahu testu byly nahrazeny 500 pmol/L apotranskobalaminu nebo 5 000 pmol/L haptokorinu. Maximální odchylky koncentrace holotranskobalaminu byly v rozmezí od  $-5\%$  až  $1\%$ .

## 12.9 Interference

Test BIOHIT Active B12 (Holotranscobalamin) byl vyvinut s předpokládanou maximální odchylkou v koncentraci holotranskobalaminu  $\leq 10\%$  za přítomnosti potencionálně interferujících sloučenin.

Byla provedena studie podle dokumentu EP7-A2<sup>12</sup> institutu Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Vzorky s hladinami holotranskobalaminu přes celé spektrum rozsahu testu byly nahrazeny potencionálně interferujícími sloučeninami uvedenými v tabulce 4 níže. Maximální odchylky koncentrace holotranskobalaminu byly v rozmezí od  $-10\%$  až  $8\%$ .

**Tabulka 4.** Seznam testovaných potencionálně interferujících sloučenin.

Potencionálně interferující látky	Nebyla prokázána interference až do následujících koncentrací
Hemoglobin	500 mg/dL
Bilirubin	30 mg/dL
Triglyceridy (intralipidový roztok)	3 000 mg/dL
Revmatoidní faktor	7 500 IU/dL
Celková bílkovina	9 000 mg/dL

### 13. ZÁRUKA

Společnost Biohit napraví veškeré závady, které se u jakéhokoli produktu („vadný produkt“) projeví v důsledku použití nevhodných materiálů či nedbalého řemeslného zpracování a které znemožní mechanické fungování produktu nebo jeho použití k určenému účelu, mimo jiné k účelům, jež jsou uvedeny ve specifikacích společnosti Biohit k danému produktu. POKUD VŠAK VYJDE NAJEVO, ŽE PŘÍČINOU ZÁVADY JE ŠPATNÉ ZACHÁZENÍ S PRODUKTEM, JEHO ZNEUŽÍVÁNÍ, NEHODA, NESPRÁVNÉ SKLADOVÁNÍ ČI POUŽÍVÁNÍ PRODUKTU PRO JINÉ NEŽ URČENÉ ÚČELY NEBO ZPŮSOBEM, JEŽ NEODPOVÍDÁ JEHO SPECIFIKACÍM A JE V ROZPORU S POKYNY UVEDENÝMI V UŽIVATELSKÉ PŘÍRUČCE, ZÁRUKA BUDE POVAŽOVÁNA ZA NEPLATNOU. Záruční doba je stanovena v uživatelské příručce k produktu a začíná datem odeslání produktu společností Biohit. Diagnostická souprava společnosti Biohit byla vyrobena v souladu s protokoly řízení kvality dle norem ISO 9001 / ISO 13485. V případě sporu o výklad je rozhodující anglická verze textu.

### 14. INFORMACE K OBJEDNÁVÁNÍ

BIOHIT Active B12 (Holotranscobalamin)      Cat. No 602 290










### 15. DATUM VYDÁNÍ

BIOHIT Active B12 (Holotranscobalamin) Version 02, August 2015.



## 16. REFERENCE

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 Symbols*.

<b>IVD</b>	<i>In vitro</i> diagnostický zdravotnický prostředek	<b>CONTROL LOW</b>	Kontrola s nízkou hladinou
<b>REF</b>	Katalogové číslo	<b>CONTROL HIGH</b>	Kontrola s vysokou hladinou
<b>LOT</b>	Šarže	<b>CONJ</b>	Konjugát
	96 testů	<b>SUBS</b>	Substrát
	Upozornění	<b>STOP</b>	Neutralizační roztok
	Seznamte se s pokyny k použití	<b>PRE</b>	Roztok pro předběžné zpracování
	Chraňte před světlem	<b>WASH 8x</b>	Koncentrát promývacího pufu (8x)
	Použít do	<b>BLANK</b>	Blank
	Uchovávejte při 2–8 °C	<b>CAL 1-5</b>	Kalibrátory 1 až 5
	Nepoužívejte opakovaně		Žíravý
			Škodlivý

## Ústředí

**BIOHIT OYJ**

Laippatie 1

00880 Helsinki, Finland

Tel: +358 9 773 861

Fax: +358 9 773 86200

E-mail: [info@biohit.fi](mailto:info@biohit.fi)

[www.biohithealthcare.com](http://www.biohithealthcare.com)

400920-02