

**BIOHIT HealthCare**

Innovating for Health



**BIOHIT ACTIVE B12**  
**(HOLOTRANSCOBALAMIN)**  
**ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ**

**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. НАЗНАЧЕНИЕ .....	4
2. ВВЕДЕНИЕ .....	4
3. ПРИНЦИП АНАЛИЗА .....	4
4. ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ .....	5
5. КОМПОНЕНТЫ НАБОРА.....	6
5.1. Раствор конъюгата .....	6
5.2. Раствор субстрата .....	6
5.3. Фиксирующий раствор .....	7
5.4. Концентрат буферного раствора для промывания .....	7
5.5. Микропланшет .....	7
5.6. Холостой раствор .....	7
5.7. Калибраторы .....	7
5.8. Контрольные образцы .....	7
5.9. Раствор для предварительной обработки .....	7
5.10. Инструкция по применению .....	8
6. НЕОБХОДИМЫЕ, НО НЕ ПРЕДОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ/ ОБОРУДОВАНИЕ .....	8
7. СТАНДАРТИЗАЦИЯ.....	8
8. ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ .....	8
8.1. Стабильность открытого (используемого) набора .....	8
8.2. Стабильность закрытого набора .....	8
8.3. Инструкции по обращению и работе .....	8
8.4. Признаки ухудшения качества .....	9
9. ОТБОР И ХРАНЕНИЕ ОБРАЗЦОВ .....	9
10. МЕТОДИКА АНАЛИЗА .....	9
10.1. Подготовка.....	9
10.2. Протокол анализа .....	10
11. РЕЗУЛЬТАТЫ .....	11
11.1. Расчет и интерпретация .....	11
11.2. Контроль качества .....	12
11.3. Ожидаемые значения .....	12
12. РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ .....	13
12.1. Линейность разбавления.....	13
12.2. Погрешность .....	13

12.3. Воспроизводимость .....	13
12.4. Предел холостого раствора .....	14
12.5. Предел обнаружения .....	15
12.6. Предел количественного определения .....	15
12.7. Хук-эффект .....	15
12.8. Перекрестная реактивность .....	15
12.9. Интерференция .....	15
13. ГАРАНТИЯ .....	16
14. ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ ЗАКАЗА .....	16
15. ДАТА ВЫПУСКА .....	16
16. СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ .....	17

## 1. НАЗНАЧЕНИЕ

Анализ BIOHIT Active B12 (Holo transcobalamin)— это иммуноферментный анализ (ИФА) для количественного определения голотранскобаламина (HoloTC) в сыворотке человека. HoloTC (витамин B12, связанный с транскобаламином) используется в качестве вспомогательного средства при диагностике и лечении дефицита витамина B12.

## 2. ВВЕДЕНИЕ

В транспортировке витамина B12 по организму участвуют три связывающих белка: внутренний фактор (IF), транскобаламин (ТС) и гаптокоррин (НС). Эти связывающие белки обеспечивают эффективное усвоение чрезвычайно малых количеств витамина B12, поступающих с пищей. В результате связывания белками ТС и НС витамина B12 образуются комплексы, называемые голотранскобаламин (HoloTC) и гологаптокоррин (HoloHC), чтобы отличать их от белков, не транспортирующих витамин.

Основной компонент в этой циркуляции (HoloHC) составляет 70–90 % от общего содержания витамина B12 в крови, но является биологически инертным. HoloTC составляет всего 10–30 % от циркулирующего в крови витамина B12, но является единственной формой витамина B12, которая может усваиваться клетками организма. Белок ТС транспортирует витамин B12 из места его всасывания в подвздошной кишке к тканям и клеткам. Затем витамин усваивается в виде комплекса HoloTC (витамин B12, связанный с транскобаламином) посредством специфического рецепторно-опосредованного поглощения. В ходе этого процесса витамин B12 доставляется в клетки организма и поставляется в виде кофермента для важных клеточных функций, таких как синтез ДНК.

Поскольку HoloTC обладает более коротким периодом полувыведения из циркуляции по сравнению с HoloHC, первым изменением, наступающим при возникновении отрицательного баланса витамина B12, с высокой долей вероятности будет снижение концентрации HoloTC в сыворотке<sup>1</sup>.

Измерение общего уровня B12 в сыворотке имеет ряд ограничений; в частности, большая часть измеренного кобаламина связана с биологически инертным НС. В ряде публикаций делается вывод, что HoloTC является лучшим индикатором уровня витамина B12, чем общая концентрация B12 в сыворотке<sup>2,3</sup>. Как и ожидалось, у пациентов с биохимическими признаками дефицита витамина B12 уровень HoloTC низкий<sup>4</sup>.

Низкий уровень отмечен у вегетарианцев<sup>5</sup>, веганов<sup>6</sup> и в популяциях с низким употреблением витамина B12. Примечательно, что у пациентов с болезнью Альцгеймера отмечен низкий уровень HoloTC, но не низкий общий уровень B12 в сыворотке по сравнению с уровнями в здоровой контрольной группе<sup>8</sup>. Уровень HoloTC отражает положение с усвоением витамина B12 независимо от употребления витамина в последнее время<sup>9</sup>.

## 3. ПРИНЦИП АНАЛИЗА

Ячейки микротитровального планшета покрыты слоем высокоспецифичных моноклональных антител к BIOHIT Active B12 (Holo transcobalamin). Во время первой инкубации происходит специфическое связывание голотранско-баламина в сыворотке с поверхностью, покрытой антителами. При второй инкубации конъюгат связывается

с любым уловленным голотранскобаламином. Затем ячейки промывают для удаления несвязанных

компонентов. Связанный голотранскобаламин обнаруживается путем инкубации с субстратом. Добавление фиксирующего раствора завершает реакцию, приводя к появлению окрашенного конечного продукта. Концентрация голотранскобаламина в пмоль/л непосредственно связана с полученным цветом и может быть оценена путем интерполяции по кривой зависимости «доза-эффект», построенной на основе калибраторов.

## 4. ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

### Только для диагностики *in vitro*. Меры обеспечения безопасности

1. Строго соблюдайте инструкции, изложенные в данной брошюре, особенно в отношении обращения и условий хранения.
2. Не пипетируйте ртом.
3. Не курите, не принимайте пищу и напитки, не наносите косметику в зонах обращения с наборами и образцами.
4. Любые травмы кожи, порезы, ссадины и другие поражения кожи должны быть надлежащим образом защищены.
5. Калибраторы, контрольные образцы, конъюгат, раствор для предварительной обработки и концентрат буфера для промывания содержат азид натрия, который может реагировать со свинцовыми и медными трубами и образовывать металлические азиды с повышенной взрывоопасностью. При утилизации смывайте большим количеством воды, чтобы предотвратить накопление азидов.
6. Фиксирующий раствор содержит гидроксид натрия. Избегайте контакта с кожей, глазами и слизистыми оболочками. Разлитую жидкость собирайте тряпкой с большим количеством воды. В случае контакта с кожей или глазами немедленно промойте водой и обратитесь к врачу.
7. Паспорта безопасности материалов для всех компонентов, содержащихся в наборе, доступны по запросу в компанию Biohit Oyj.
8. Данный продукт требует обращения с образцами и материалами, полученными от животных и людей. Рекомендуется считать все материалы животного и человеческого происхождения потенциально инфекционными и обращаться с ними в соответствии со стандартом OSHA в отношении биологической безопасности при контакте с патогенами, переносимыми с кровью, 2-го уровня или другими применимыми практиками биологической безопасности, которые должны применяться к материалам, содержащим или заподозренным в содержании возбудителей инфекции.

 <b>ВЫЗЫВАЕТ КОРРОЗИЮ</b>	Фиксирующий раствор	H314 P264 P280  P305+351+ 338	При попадании на кожу и в глаза вызывает химические ожоги. После работы тщательно вымыть ... Использовать перчатки и средства для защиты глаз/лица... (тип указывается изготовителем). <b>ПРИ ПОПАДАНИИ В ГЛАЗА:</b> Осторожно промыть глаза водой в течение нескольких минут. Снять контактные линзы, если вы пользуетесь ими и если это легко сделать. Продолжить промывание глаз.
 <b>ОПАСНОЕ ВЕЩЕСТВО</b>	Субстрат	H302+312+ 332 P260 P271 P280  P301+310  P304+340  P312	Вредно при проглатывании, попадании на кожу или вдыхании.  Избегать вдыхание пыли/дыма/газа/ тумана/паров/ аэрозолей. Использовать только на открытом воздухе или в хорошо вентилируемом месте. Использовать перчатки и средства для защиты глаз/лица... (тип указывается изготовителем). <b>ПРИ ПРОГЛАТЫВАНИИ:</b> Немедленно обратиться в <b>ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ ЦЕНТР</b> или к специалисту/ терапевту. <b>ПРИ ВДЫХАНИИ:</b> Вынести пострадавшего на свежий воздух и обеспечить ему полный покой в удобном для дыхания положении. Обратиться в <b>ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ ЦЕНТР</b> или к врачу-специалисту/ терапевту в случае плохого самочувствия.
	Концентрат буферного раствора для промывания (8x)	H302 H412 EUH032 P264 P270  P273 P301+310  P330	Вредно при проглатывании. Вредно для водной флоры и фауны с долгосрочными последствиями. При контакте с кислотой выделяет особо токсичный газ. После работы тщательно вымыть ... Не принимать пищу, не пить и не курить в процессе использования этого продукта. Не допускать попадания в окружающую среду. <b>ПРИ ПРОГЛАТЫВАНИИ:</b> Немедленно обратиться в <b>ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ ЦЕНТР</b> или к специалисту/ терапевту. Прополоскать рот.

## 5. КОМПОНЕНТЫ НАБОРА

### 5.1. Раствор конъюгата **CONJ**

Один 15 мл флакон меченных щелочной фосфатазой мышинных моноклональных антител к человеческому транскобаламину в трис-буфере со стабилизатором белка. Консервант: < 0,1 % (масс./об.) азида натрия. Готово к использованию.

### 5.2. Раствор субстрата

**SUBS**



Один 15 мл флакон паранитрофенилфосфата (pNPP), буферный раствор. Готово к использованию.  
Во время хранения не подвергать воздействию света.  
ВНИМАНИЕ! ОПАСНОЕ ВЕЩЕСТВО.

### 5.3. Фиксирующий раствор

**STOP**



Один 15 мл флакон 1М гидроксида натрия, pH > 10.  
Готово к использованию. ВНИМАНИЕ! ВЫЗЫВАЕТ КОРРОЗИЮ.

### 5.4. Концентрат буферного раствора для промывания

**WASH**

**8x**



Два 25 мл флакона фосфатного буфера. Консервант: 0,72 % (масс./об.) азида натрия.  
Разбавить перед использованием. ВНИМАНИЕ! ОПАСНОЕ ВЕЩЕСТВО.

### 5.5. Микропланшет

Микротитровальные (разъединяемые) пластины на 12 x 8 ячеек, покрытые мышинными моноклональными антителами к голотранскобаламину, в повторно герметизируемой упаковке из фольги с влагопоглотителем.

### 5.6. Холостой раствор

**BLANK**



Один 1 мл флакон фосфатного буфера со стабилизатором белка (крупного рогатого скота).

### 5.7. Калибраторы

**CAL 1-5**



Пять 1 мл флаконов фосфатного буфера со стабилизатором белка (крупного рогатого скота), содержащего HoloTC.

Консервант: < 0,1 % (масс./об.) азида натрия. Готово к использованию. Во время хранения не подвергать воздействию света.

КОНЦЕНТРАЦИИ УКАЗАНЫ НА ЭТИКЕТКАХ ФЛАКОНОВ.

### 5.8. Контрольные образцы

**CONTROL LOW**

**CONTROL HIGH**



Один флакон контрольного образца с низким содержанием аналита и один флакон контрольного образца с высоким содержанием аналита: 1 мл флакон фосфатного буфера со стабилизатором белка (крупного рогатого скота), содержащего HoloTC. Консервант: < 0,1 % (масс./об.) азида натрия.

Готово к использованию. Во время хранения не подвергать воздействию света.

### 5.9. Раствор для предварительной обработки

**PRE**

Один 25 мл флакон цитратного буфера. Консервант: < 0,1 % (масс./об.) азида натрия. Готово к использованию.

## 5.10. Инструкция по применению

## 6. НЕОБХОДИМЫЕ, НО НЕ ПРЕДОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ/ ОБОРУДОВАНИЕ

1. Аппарат для чтения планшетов/пластин на 96 ячеек с фильтром 405 нм.
2. Прецизионные пипетки для дозирования 100 мкл. Восемиканальный дозатор или аналогичное устройство для дозирования около 250–300 мкл для ручного промывания.
3. Стеклоанный или пластмассовый мерный цилиндр объемом 200 мл.
4. Дистиллированная/деионизированная вода.
5. Бумажные полотенца.
6. Таймер на 30, 35 и 60 минут.

## 7. СТАНДАРТИЗАЦИЯ

В настоящее время не имеется международно признанного эталонного метода или эталонных материалов для стандартизации. Калибровочные растворы BIONIT Active B12 (Holotranscobalamin) отслеживаются по внутренним стандартным образцам компании, которые подвергаются однократному присвоению значения.

## 8. ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

### 8.1. Стабильность открытого (используемого) набора

После вскрытия набора рабочие характеристики не ухудшаются при трехкратном использовании набора в течение трех месяцев. После использования компоненты следует вернуть на хранение при температуре 2–8 °С.

### 8.2. Стабильность закрытого набора

При температуре 2–8 °С закрытые компоненты стабильны до окончания срока годности, указанного на этикетках.

### 8.3. Инструкции по обращению и работе

1. Компоненты набора следует хранить при температуре 2–8 °С и использовать до истечения срока годности, указанного на этикетках. Не используйте реагенты с истекшим сроком годности.
2. Каждая партия реагентов и калибраторов проходит стандартизацию, чтобы обеспечить правильную реакцию. Не смешивайте реагенты и калибраторы из разных партий.
3. Концентрации калибраторов указаны на этикетках флаконов и могут различаться от партии к партии.
4. Не замораживайте наборы.
5. Концентрат буферного раствора для промывания необходимо разбавлять перед использованием. Все прочие реагенты готовы к применению.
6. Разбавленный буферный раствор для промывания стабилен в течение не менее 3 месяцев при условии отсутствия бактериального заражения. После каждого применения убирайте на хранение при температуре 2–8 °С.



7. Лишние (неиспользованные) микротитровальные пластины храните в упаковке из фольги с влагопоглотителем. Убедитесь в целостности герметичной упаковки и до использования храните при температуре 2–8 °С.
8. Во время хранения не подвергайте калибраторы, контрольные образцы и субстрат воздействию света.
9. Избегайте загрязнения реагентов. Для каждого реагента или каждой манипуляции с образцом надевайте новый одноразовый наконечник на пипетку.

## 8.4. Признаки ухудшения качества

Субстрат должен быть бесцветным или чуть желтоватого цвета. Если реагент приобрел более темный желтый цвет, значит, он загрязнен и подлежит утилизации. Помутнение или образование осадка в любом компоненте указывает на ухудшение качества, такой компонент должен быть утилизирован.

## 9. ОТБОР И ХРАНЕНИЕ ОБРАЗЦОВ

1. Анализ рекомендован для образцов человеческой сыворотки (включая пробирки сепаратора сыворотки).
2. Не используйте грубо гемолизированные или мутные образцы.
3. Тщательно перемешайте размороженные образцы перед анализом, избегайте повторного замораживания/размораживания.
4. Образцы могут быть подвергнуты 3 циклам замораживания/размораживания. Размороженные образцы перед анализом следует центрифугировать при  $\geq 10\,000$  г в течение 5 минут.
5. Не оставляйте образцы со сгустком или без при температуре выше комнатной дольше, чем до следующего утра ( $\leq 16$  часов).
6. Образцы со сгустком можно хранить при температуре 2–8 °С до трех дней, без сгустка — до четырех недель; более длительное хранение до 6 месяцев возможно для образцов без сгустка при температуре -20 °С.
7. Перед анализом следует добавить к каждому образцу равный объем раствора для предварительной обработки, например к 150 мкл образца — 150 мкл раствора для предварительной обработки. До анализа предварительно обработанные образцы можно хранить в закрытых колпачками сосудах в течение не более 24 часов при температуре 2–8 °С.

## 10. МЕТОДИКА АНАЛИЗА

### 10.1. Подготовка

#### *Подготовка к анализу*

Перед использованием дайте всем компонентам набора, включая микротитровальные пластины, согреться до 18–25 °С в течение 30–60 минут. Перемешайте реагенты, осторожно переворачивая их.

При хранении при температуре 2–8 °С в буферном растворе для промывания выпадает осадок (могут быть видны кристаллы). Перед разведением водой дайте буферу согреться (можно поместить в инкубатор при температуре 37 °С, если нужно ускорить процесс), пока **ВСЕ** признаки осадка не перестанут быть видны невооруженным глазом.

Разбавьте указанный ниже реагент и тщательно перемешайте.

Реагент	Объем	Добавить
Концентрат буферного раствора для промывания 8х	1 флакон	175 мл дистиллированной/деионизированной воды

Рассчитайте количество микротитровальных пластин, необходимых для текущего анализа, разместите их в держателе для микротитровальных пластин. Положите неиспользованные пластины в герметизируемый пакет из фольги с влагопоглотителем и уберите для хранения при температуре 2–8 °С до следующего использования. Убедитесь, что все пластины надежно закреплены в держателе для микротитровальных пластин. На верхнем крае пластины можно указать номер для идентификации. Сохраните держатель для микротитровальных пластин для дальнейшего использования.

Перед анализом следует добавить к каждому образцу равный объем раствора для предварительной обработки, например к 150 мкл образца — 150 мкл раствора для предварительной обработки. До анализа предварительно обработанные образцы можно хранить в закрытых колпачками сосудах в течение не более 24 часов при температуре 2–8 °С.

## 10.2. Протокол анализа

1. Пометьте ячейки для идентификации.
2. Пипеткой отберите по 100 мкл калибраторов, контрольных образцов из набора и предварительно обработанных (50:50) образцов пациента и поместите их в ячейки, дублируя каждый из растворов. Не забывайте менять наконечники пипеток при работе с разными растворами. Данный этап должен занимать не больше 15 минут.
3. Инкубируйте 60 ±10 минут при температуре 18–25 °С.
4. Слейте содержимое пластины, быстро перевернув ее над раковиной, пригодной для утилизации биологических материалов, но помните, что образцы потенциально могут быть инфицированы. Промокните перевернутые пластины бумажными полотенцами. **Не промывайте.**
5. Добавьте по 100 мкл конъюгата в каждую ячейку.
6. Инкубируйте 35 ±5 минут при температуре 18–25 °С.
7. Слейте содержимое пластины, быстро перевернув ее над раковиной, пригодной для утилизации биологических материалов. Промокните перевернутые пластины бумажными полотенцами.
8. Промойте ячейки **пять раз** не менее чем 250 мкл разбавленного буферного раствора для промывания. **Сливайте жидкость и промокайте пластины после каждого промывания.**
9. Добавьте по 100 мкл субстрата в каждую ячейку.
10. Инкубируйте 30 ±5 минут при температуре 18–25 °С. **Не сливайте.**
11. Добавьте в каждую ячейку по 100 мкл фиксирующего раствора, в том же порядке и с той же скоростью, что и субстрат. Осторожно постучите по пластине для перемешивания содержимого.
12. Измерьте оптическую плотность при 405 нм. Считайте результат в течение 120 минут с момента добавления фиксирующего раствора.

## 11. РЕЗУЛЬТАТЫ

### 11.1. Расчет и интерпретация

Постройте график зависимости среднего значения поглощения каждого калибратора на оси Y от соответствующей концентрации калибратора в пмоль/л на оси X. **КОНЦЕНТРАЦИИ КАЛИБРАТОРОВ УКАЗАНЫ НА ЭТИКЕТКАХ ФЛАКОНОВ. ЗНАЧЕНИЯ КОНЦЕНТРАЦИИ ПРИСВАИВАЮТСЯ КАЖДОЙ ПАРТИИ КАЛИБРАТОРОВ И МОГУТ РАЗЛИЧАТЬСЯ ОТ ПАРТИИ К ПАРТИИ.**

Концентрация (пмоль/л) каждого образца может быть рассчитана путем определения точки на кривой, соответствующей среднему значению поглощения образца на оси Y, и чтения соответствующего значения концентрации в пмоль/л на оси X. Эта процедура может быть выполнена вручную при помощи миллиметровой бумаги или с использованием аппарата для чтения планшетов с программным обеспечением для построения кривой. При использовании аппарата для чтения планшетов со встроенным ПО следует использовать **алгоритм подбора кривой линейной регрессии.**

Ниже для справки приведен типичный график калибровочной кривой (рис. 1), не используйте его для интерпретации результатов. Образцы с концентрациями выше 128 пмоль/л находятся за пределами диапазона анализа и должны быть зарегистрированы как имеющие концентрацию > 128 пмоль/л, результаты этих измерений не следует экстраполировать. Если результаты дублирующихся измерений отдельных образцов отклоняются меньше чем на 20 %, они могут быть приняты для обозначения приемлемости анализа.

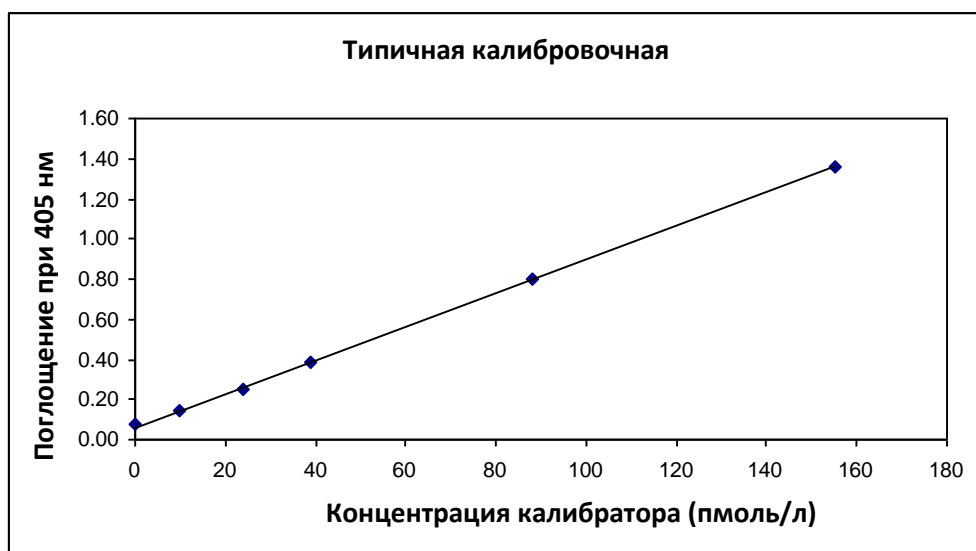


Рис. 1. Типичная калибровочная кривая анализа BIONIT Active B12 (Holotranscobalamin).

#### **Единицы измерения**

Единицей измерения в количественном анализе BIONIT Active B12 (Holotranscobalamin) является пмоль/л.

#### **Интервал измерений (регистрируемый диапазон)**

Интервал измерений анализа составляет от 10 пмоль/л до 128 пмоль/л.

## 11.2. Контроль качества

Убедитесь, что техническое обслуживание и калибровка аппарата для чтения планшетов соответствуют инструкциям производителя и используются надлежащая длина волны (405 нм) и алгоритм подбора кривой (линейная регрессия).

Пользователи должны обязательно полностью ознакомиться с инструкциями по проведению анализа, особенно с разделами «Предупреждения и меры предосторожности» и «Инструкции по обращению и работе». Перед регистрацией результатов анализов пациенты пользователи должны продемонстрировать, что они могут обеспечить рабочие характеристики в отношении воспроизводимости и регистрируемый диапазон результатов анализа, сопоставимые с установленными производителем. Для контроля качества процедуры анализа рекомендуется при каждом запуске анализировать готовые к использованию контрольные образцы с высоким и низким содержанием аналита из набора.

При условии соблюдения норм воспроизводимости, указанных производителем, несовпадение результатов контрольного образца с нижеприведенной спецификацией означает сбой анализа. Результаты такого анализа регистрации не подлежат. Оператор может повторить анализ, проверив процедуру его выполнения, или обратиться к производителю. При повторном проведении анализа приготовьте свежеразбавленные растворы каждого образца. При выполнении анализов лаборатории могут использовать применяемые в учреждении средства контроля. Храните такой контрольный материал при температуре не выше -20 °C и не допускайте повторного замораживания/размораживания. Консерванты, такие как азид натрия в концентрации < 0,1 % (масс./об.), не влияют на результаты анализа образцов.

Диапазоны нормальных значений и соответствующие предельные значения должны рассчитываться для конкретных популяций, с которыми работает пользователь.

**Табл. 1.** Спецификации для контрольных образцов с низким и высоким содержанием аналита.

Спецификации для контрольных образцов	Контрольный образец с низким содержанием аналита	Контрольный образец с высоким содержанием аналита
Среднее значение двух измерений	15–35 пмоль/л	36–84 пмоль/л

## 11.3. Ожидаемые значения

При помощи иммуноферментного анализа BIONIT Active B12 (Holo transcobalamin) были проверены 135 образцов сыворотки, взятых у внешне здоровых доноров без симптомов заболевания в возрасте от 18 до 75 лет, причем количество мужчин [n = 65] и женщин [n = 70] среди доноров было примерно одинаковым.

В целом средняя концентрация BIONIT Active B12 (Holo transcobalamin) для этой популяции составила 72 пмоль/л (диапазон 15–147 пмоль/л). На основании данных этой эталонной популяции рассчитан следующий диапазон нормальных значений (центральные 95 % результатов).

<b>Диапазон нормальных значений</b>	21–123 пмоль/л
-------------------------------------	----------------

Этот диапазон нормальных значений предлагается только в качестве руководства, каждая лаборатория должна установить собственный диапазон нормальных значений, который может быть уникальным для

популяции, обслуживаемой лабораторией, в зависимости от географического положения, пациентов, диетических факторов, условий окружающей среды или клинической практики.

## 12. РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Репрезентативные данные; результаты в отдельных лабораториях могут варьироваться.

### 12.1. Линейность разбавления

В исследовании, выполненном в соответствии с рекомендациями Института клинических и лабораторных стандартов EP6-A<sup>10</sup>, продемонстрирована линейность анализа BIONIT Active B12 (Holotranscobalamin) в диапазоне значений от 5,3 до 156,0 пмоль/л (с округлением до одного знака после запятой; результаты в отдельных лабораториях могут отличаться от этих данных).

### 12.2. Погрешность

Корреляционное исследование проводилось на основе образцов сыворотки внешне здоровых взрослых доноров. Все образцы анализировались с помощью иммуноферментного анализа BIONIT Active B12 (Holotranscobalamin) и другого коммерчески доступного анализа голотранскобаламина согласно рекомендациям Института клинических и лабораторных стандартов EP9-A2<sup>11</sup>. Диапазон значений концентрации образцов составил от 13,8 до 112,8 пмоль/л. Полученные статистические значения приведены в табл. 2.

**Табл. 2.** Сравнение иммуноферментного анализа BIONIT Active B12 (Holotranscobalamin) и коммерчески доступного анализа.

Сравнение иммуноферментного анализа BIONIT Active B12 (Holotranscobalamin) и коммерчески доступного анализа	
Количество образцов	111
Наклон линии регрессии (регрессия по Пассингу-Баблоку) (95 % ДИ)	0,95 (0,89–1,01)
Отрезок, отсекаемый на оси Y (регрессия по Пассингу-Баблоку) (95 % ДИ)	8,39 (5,73–11,77)
Коэффициент корреляции (r) (Пирсона) (95 % ДИ)	0,93 (0,90–0,95)

### 12.3. Воспроизводимость

Семь (7) образцов человеческой сыворотки анализировали с использованием 3 партий реагентов. Образцы анализировали 2 оператора, дублируя анализы по 8 раз, в течение 5 дней (n = 80). Данные этого исследования суммированы в табл. 3.

**Табл. 3. Данные воспроизводимости.**

Образец	n	Партия	Оператор	Среднее значение (пмоль/л)	%КВ в пределах анализа	Общий %КВ
1 А	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 А	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 А	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 А	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 А	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 А	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%
Контрольный образец с низким содержанием аналита	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%
Контрольный образец с высоким содержанием аналита	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. Предел холостого раствора

В репрезентативном исследовании определения предела холостого раствора выполнялись с использованием двух образцов голотранскобаламина с низкой концентрацией аналита и двух партий реагентов (по 120 повторов

на каждую партию реагента). Предел холостого раствора иммуноферментного анализа BИОНИТ Active B12 (Holotranscobalamin) составил 4,9 пмоль/л (с округлением до 1 десятичного знака после запятой).

### **12.5. Предел обнаружения**

В репрезентативном исследовании определения предела обнаружения выполнялись с использованием пяти образцов голотранскобаламина с низкой концентрацией аналита и двух партий реагентов (по 120 повторов на каждую партию реагента). Предел обнаружения иммуноферментного анализа BИОНИТ Active B12 (Holotranscobalamin) составил 8,1 пмоль/л (с округлением до 1 десятичного знака после запятой).

### **12.6. Предел количественного определения**

Определения предела количественного определения выполнялись с использованием пяти образцов голотранскобаламина с низкой концентрацией аналита и двух партий реагентов (по 120 повторов на каждую партию реагента). Предел количественного определения иммуноферментного анализа BИОНИТ Active B12 (Holotranscobalamin) составил 8,3 пмоль/л (с округлением до 1 десятичного знака после запятой).

### **12.7. Хук-эффект**

Хук-эффект — это явление, при котором образцы с очень высоким содержанием аналита могут считываться в динамическом диапазоне анализа. Для иммуноферментного анализа BИОНИТ Active B12 (Holotranscobalamin) хук-эффект при анализе двух образцов с концентрацией около 419 пмоль/л и 2236 пмоль/л не обнаружен.

### **12.8. Перекрестная реактивность**

Иммуноферментный анализ BИОНИТ Active B12 (Holotranscobalamin) разработан таким образом, что максимальное отклонение концентрации голотранскобаламина составляет  $\leq 10\%$  в присутствии апотранскобаламина или гаптокоррина.

Исследование было выполнено на основании рекомендаций Института клинических и лабораторных стандартов, изложенных в документе EP7-A2<sup>12</sup>. К трем образцам с уровнями голотранскобаламина из диапазона анализа добавлялись 500 пмоль/л апотранскобаламина или 5000 пмоль/л гаптокоррина. Максимальное отклонение концентрации голотранскобаламина составляло от  $-5\%$  до  $1\%$ .

### **12.9. Интерференция**

Иммуноферментный анализ BИОНИТ Active B12 (Holotranscobalamin) разработан таким образом, что максимальное отклонение концентрации голотранскобаламина составляет  $\leq 10\%$  в присутствии потенциально мешающих веществ.

Исследование было выполнено на основании рекомендаций Института клинических и лабораторных стандартов, изложенных в документе EP7-A2<sup>12</sup>. К образцам с уровнями голотранскобаламина из диапазона анализа добавлялись потенциально мешающие вещества, приведенные в табл. 4. Максимальное отклонение концентрации голотранскобаламина составляло от  $-10\%$  до  $8\%$ .

**Табл. 4.** Список протестированных потенциально мешающих веществ

Потенциально мешающее вещество	Интерференция не обнаружена до указанной концентрации
Гемоглобин	500 мг/дл
Билирубин	30 мг/дл
Триглицериды (интралипидный раствор)	3000 мг/дл
Ревматоидный фактор	7500 МЕ/дл
Общий белок	9000 мг/дл

### **13. ГАРАНТИЯ**

Biohit исправит все дефекты, обнаруженные в любом продукте («Дефектный продукт»), причинами которых являются использование ненадлежащих материалов или нарушение технологии производства, и которые препятствуют механическому функционированию или применению по назначению продуктов, включая, но не ограничиваясь, функции, указанные в спецификациях продуктов Biohit. **ВМЕСТЕ С ТЕМ ЛЮБАЯ ГАРАНТИЯ БУДЕТ СЧИТАТЬСЯ АННУЛИРОВАННОЙ, ЕСЛИ ОБНАРУЖИТСЯ, ЧТО ОТКАЗ ВЫЗВАН НЕПРАВИЛЬНЫМ ОБРАЩЕНИЕМ, ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ НЕ ПО НАЗНАЧЕНИЮ, СЛУЧАЙНЫМ ПОВРЕЖДЕНИЕМ, НЕПРАВИЛЬНЫМ ХРАНЕНИЕМ ИЛИ ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ПРОДУКТОВ НЕ В СООТВЕТСТВИИ С ОГРАНИЧЕНИЯМИ ИЛИ НЕ В СООТВЕТСТВИИ С ИХ СПЕЦИФИКАЦИЯМИ, В НАРУШЕНИЕ ИНСТРУКЦИЙ, ПРИВЕДЕННЫХ В РУКОВОДСТВЕ ПО ЭКСПЛУАТАЦИИ.** Срок настоящей гарантии указан в руководстве по эксплуатации продуктов и действует с даты поставки соответствующего продукта компанией Biohit. Этот набор произведен Biohit Diagnostic в соответствии с протоколами управления качеством по ISO 9001 / ISO 13485. В случае споров об интерпретации следует принимать во внимание тест инструкции на английском языке.

### **14.ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ ЗАКАЗА**

БИОНИТ Active B12 (Holo transcobalamin) Cat. No 602 290

### **15. ДАТА ВЫПУСКА**

БИОНИТ Active B12 (Holo transcobalamin) Version 02, August 2015.



## 16. СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

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*.

	Для диагностики <i>in vitro</i>		Контрольный образец с низким содержанием аналита
	Номер по каталогу		Контрольный образец с высоким содержанием аналита
	Номер партии		Конъюгат
	96 анализов		Субстрат
	Внимание!		Фиксирующий раствор
	См. инструкцию по применению.		Раствор для предварительной обработки
	Беречь от воздействия света		Концентрат буферного раствора для промывания (8x)
	Годен до		Холостой раствор
	Хранить при температуре 2–8 °C		Калибраторы 1–5
	Повторное использование запрещено		Вызывает коррозию
			Опасное вещество

**Головные офисы**

**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