

BIOHIT HealthCare

Innovating for Health



BIOHIT ACTIVE B12
(HOLOTRANSCOBALAMIN)
BRUKSANVISNING

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, www.biohithealthcare.com

BIOHIT Active B12 (Holotranscobalamin)

Kat. nr. 602290

1. AVSEDD ANVÄNDNING	4
2. INLEDNING	4
3. TESTETS PRINCIP	4
4. VARNINGAR OCH FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRDER	5
5. KITETS INNEHÅLL	6
5.1 Konjugatlösning	6
5.2 Substratlösning	6
5.3 Stopplösning	6
5.4 Tvättbuffertkoncentrat	6
5.5 Mikroplatta	6
5.6 Blanklösning	6
5.7 Kalibratorer	6
5.8 Kontroller	6
5.9 Förbehandlingslösning.....	7
5.10 Bruksanvisning	7
6. MATERIAL/UTRUSTNING SOM KRÄVS MEN EJ MEDFÖLJER	7
7. STANDARDISERING	7
8. FÖRVARING OCH STABILITET	7
8.1 Stabilitet för öppnat kit (som används)	7
8.2 Stabilitet för oöppnat kit	7
8.3 Förklaringar till hantering och förfarande	7
8.4 Tecken på försämring	8
9. PROVTAGNING OCH FÖRVARING	8
10. TESTFÖRFARANDE	8
10.1 Beredning	8
10.2 Analysprotokoll	9
11. RESULTAT	10
11.1. Beräkning och tolkning	10
11.2 Kvalitetskontroll.....	11
11.3 Förväntade värden.....	11
12. PRESTANDADATA	11
12.1 Spädningslinearitet	12
12.2 Exakthet	12

12.3 Precision	12
12.4 Blankgräns	13
12.5 Detektionsgräns	14
12.6 Kvantiteringsgräns	14
12.7 High Dose Hook.....	14
12.8 Korsreaktivitet	14
12.9 Interferens.....	14
13. GARANTI	15
14. BESTÄLLNINGSGIVNING.....	15
15. UTGIVNINGSDATUM	15
16. REFERENSER	16

1. AVSEDD ANVÄNDNING

Analysen BIOHIT Active B12 (Holo transcobalamin) är en enzymimmunoanalys (EIA) för kvantitativ bestämning av holo transcobalamin (HoloTC) i humanserum. HoloTC (vitamin B12 bunden till transcobalamin) används som hjälpmedel vid diagnostisering och behandling av vitamin B12-brist.

2. INLEDNING

Tre bindande proteiner är involverade i transport av vitamin B12 runt i kroppen – inre faktor (IF), transcobalamin (TC) och haptokorrin (HC). Dessa bindande proteiner säkerställer effektivt upptag av de mycket små mängder vitamin B12 som är tillgängliga i kosten. När TC och HC binder vitamin B12 kallas de komplex som bildas holo transcobalamin (HoloTC) och holo haptokorrin (HoloHC), för att särskilja dem från proteiner som inte binder något vitamin.

Den större delen av cirkulationen, HoloHC, representerar 70–90 % vitamin B12 i blodet, men är biologiskt inert. HoloTC representerar bara 10–30 % av det vitamin B12 som cirkulerar i blodet, men det är den enda formen av vitamin B12 som kan tas upp av kroppens celler. Enbart TC-proteinet transporterar vitamin B12 från dess absorptionsställe i tunntarmen till vävnader och celler. Vitaminet internaliseras som HoloTC-komplexet (vitamin B12 bundet till transcobalamin) via ett specifikt receptormedierat upptag. Denna process levererar vitamin B12 till kroppens celler och tillhandahåller också vitaminet som ett koenzym för viktiga cellfunktioner, som DNA-syntes. Eftersom HoloTC har kortare cirkulerande halveringstid än HoloHC, är den första förändringen som inträder vid negativ vitamin B12-balans sannolikt en minskning av HoloTC-koncentrationen i serum¹.

Mätningen av totalt B12 i serum dras med vissa begränsningar, speciellt att större delen av det uppmätta kobalaminet binds till biologiskt inert HC. Flera publicerade studier kom till slutsatsen att HoloTC skulle vara en bättre indikator för vitamin B12-statusen än totalt B12 i serum^{2,3}. HoloTC-nivåerna är som förväntat låga bland patienter med biokemiska tecken på vitamin B12-brist⁴.

Låga värden har rapporterats bland vegetarianer⁵, veganer⁶ och populationer med lågt intag av vitamin B12⁷. Anmärkningsvärt är att låga nivåer HoloTC men inte totalt B12 i serum rapporterades hos patienter med Alzheimers sjukdom jämfört med nivåerna i en frisk kontrollgrupp⁸. HoloTC-nivåerna speglar vitamin B12-statusen, oberoende av nylig absorption av vitamin⁹.



3. TESTETS PRINCIP

Mikrotiterbrunnarna är bestrukna med en högst specifik monoklonal antikropp för BIOHIT Active B12 (Holo transcobalamin). Under den första inkubationen binds holo transcobalamin i serum specifikt till den antikroppsbestrukna ytan. Under den andra inkubationen binds konjugatet till eventuellt uppfångat holo transcobalamin. Brunnarna tvättas därefter för att avlägsna obundna komponenter. Bundet holo transcobalamin upptäcks genom inkubation med substratet. Tillsats av stopplösning avslutar reaktionen vilket resulterar i en färgad slutprodukt. Koncentrationen av holo transcobalamin i pmol/L står i direkt relation till den genererade färgen och kan uppskattas med hjälp av interpolation från en dosresponskurva baserad på kalibratorer.

4. VARNINGAR OCH FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRDER

Endast för *in vitro*-diagnostiskt bruk. Säkerhetsåtgärder

1. Följ instruktionerna i denna broschyr noga, speciellt de om hantering och förvaring.
2. Pipettera inte med munnen.
3. Undvik att röka, äta, dricka eller lägga på smink i de områden där kit och prover hanteras.
4. Eventuella hudåkommor, skärsår, skrubbsår eller andra hudsår ska skyddas på lämpligt sätt.
5. Kalibratorer, kontroller, konjugat, förbehandling och tvättbuffertkoncentrat innehåller natriumazid som kan reagera med bly och koppar i avloppsrör så att det bildas högexplosiva metallazider. Spola vid avyttring med stora mängder vatten för att förhindra azidbildning.
6. Stopplösningen innehåller natriumhydroxid. Använd kontakt med hud, ögon och slemhinnor. Spill och utsläpp ska moppas upp med stora mängder vatten. Vid kontakt med hud eller ögon, skölj med vatten och sök sjukvård omedelbart.
7. Materialsäkerhetsdatablad för samtliga komponenter som ingår i detta kit kan fås på begäran från Biohit Oyj.
8. Denna produkt kräver hantering av prover och material från människa och djur. Allt material från människa eller djur ska betraktas som potentiellt smittsamma och hanteras i enlighet med OSHA:s standard för blodburna patogener av biosäkerhetsnivå 2, eller andra tillämpliga biosäkerhetsrutiner tillämpas för material som innehåller eller misstänks innehålla smittsamma ämnen.

 FRÄTANDE	Stopplösning	H314 P264 P280 P305+351 +338	Orsakar allvarliga frätskador på hud och ögon. Tvätta händer grundligt efter användning. Använd skyddshandskar/skyddskläder/ögonskydd/ansiktsskydd. VID KONTAKT MED ÖGONEN: Skölj försiktigt med vatten i flera minuter. Ta ur eventuella kontaktlinser om det går lätt. Fortsätt att skölja.
 SKADLIGT	Substrat	H302+312 +332 P260 P271 P280 P301+310 P304+340 P312	Skadligt vid förtäring, hudkontakt eller inandning . Inandas inte damm/rök/gaser/dimma/ångor/sprej. Används endast utomhus eller i väl ventilerade utrymmen. Använd skyddshandskar/skyddskläder/ögonskydd/ansiktsskydd. 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.
	Tvättbuffertkoncentrat (8X)	H302 H412 EUH032 P264 P270 P273 P301+310 P330	Skadligt vid förtäring. Skadliga långtidseffekter för vattenlevande organismer. Utvecklar mycket giftig gas vid kontakt med syra. Tvätta händer grundligt efter användning. Ät inte, drick inte och rök inte när du använder produkten. Undvik utsläpp till miljön. VID FÖRTÄRING: Kontakta genast GIFTINFORMATIONSCENTRAL eller läkare Skölj munnen.

5. KITETS INNEHÅLL

5.1 Konjugatlösning **CONJ**

En 15 ml flaska med alkaliska fosfatasmärkta monoklonala musantikroppar mot humantranskobalamin i trisbuffert med proteinstabiliserare. Konserveringsmedel: < 0,1 % (v/vol.) natriumazid. Färdigt att använda.

5.2 Substratlösning **SUBS**



En 15 ml flaska med para-nitrofenylfosfat (pNPP), buffertlösning. Färdig att använda. Exponera inte för ljus under förvaring.

OBS! SKADLIG.

5.3 Stopplösning **STOP**



En 15 ml flaska med 1M natriumhydroxid, (pH >10).

Färdig att använda. OBS! FRÄTANDE.

5.4 Tvättbuffertkoncentrat **WASH 8x**



Två 25 ml flaskor med fosfatbuffert. Konserveringsmedel: 0,72 % (v/vol.) natriumazid.

Späd före användning. OBS! SKADLIG.

5.5 Mikroplatta

12 x 8 brunsmikrotiterremсор (avbrytbara) bestrukna med anti-holotranskobalamin monoklonal antikropp från mus i återförslutningsbar folieförpackning med torkmedel.

5.6 Blanklösning **BLANK**



En 1 ml flaska med fosfatbuffert med proteinstabiliserare (nöt).

5.7 Kalibratorer **CAL 1-5**



Fem 1 ml flaskor med fosfatbuffert med proteinstabiliserare (nöt) som innehåller HoloTC.

Konserveringsmedel: < 0,1 % (v/vol.) natriumazid. Färdig att använda. Exponera inte för ljus under förvaring.

SE KONCENTRATIONER PÅ FLASKETIKETTERNA

5.8 Kontroller **CONTROL LOW CONTROL HIGH**



En flaska med kontroll låg och en med kontroll hög: 1 ml fosfatbuffert med proteinstabiliserare (nöt) som innehåller HoloTC. Konserveringsmedel: < 0,1 % (v/vol.) natriumazid.

Färdig att använda. Exponera inte för ljus under förvaring.

5.9 Förbehandlingslösning **PRE**

En 25 ml flaska med citratbuffert. Konserveringsmedel: < 0,1 % (v/vol.) natriumazid. Färdig att använda.

5.10 Bruksanvisning

6. MATERIAL/UTRUSTNING SOM KRÄVS MEN EJ MEDFÖLJER

1. 96 brunnsplatt-/remsläsare med 405 nm filter.
2. Precisionspipett(er) för dispensering av 100 µl. En 8-kanalig dispenserare eller liknande för dispensering av cirka 250–300 µl för manuell tvätt.
3. Mätcylinder av glas/plast 1×200 ml.
4. Destillerat/avjoniserat vatten.
5. Pappershanddukar.
6. Timer för 30-, 35- och 60-minutersintervall.

7. STANDARDISERING

För tillfället finns ingen internationellt erkänd referensmetod eller referensmaterial för standardisering.

Kalibratorerna i BIOHIT Active B12 (Holotranscobalamin) kan spåras till interna referensstandarder som genomgick en engångsvärdetilldelning.

8. FÖRVARING OCH STABILITET

8.1 Stabilitet för öppnat kit (som används)

Ett kit öppnades och återanvändes vid tre tillfällen under tre månader utan negativ effekt på kitets prestanda. Efter användning måste komponenter återföras till förvaring vid 2–8 °C.

8.2 Stabilitet för oöppnat kit

Vid 2–8 °C är oöppnade komponenter stabila till den tid som anges på etiketterna.

8.3 Förklaringar till hantering och förfarande

1. Förvara kitets komponenter vid 2–8 °C och använd fram till utgångsdatumet på etiketterna. Använd inte reagenser efter utgångsdatumet.
2. Varje parti reagenser och kalibrаторer har standardiserats till att avge rätt reaktion. Blanda inte reagenser och kalibrаторer mellan olika partier.
3. Kalibrаторkoncentrationerna anges på flasketiketterna och kan variera mellan partier.
4. Frys inte partier.

5. Tvättbuffertkoncentrat måste spädas före användning. Alla andra reagenser är färdiga att använda.
6. Utspätt tvättbuffertkoncentrat är stabilt i minst 3 månader om mikrobkontaminering undviks. Återför till förvaring vid 2–8 °C efter varje användning.
7. Lägg tillbaka överblivna (oanvända) mikrotiterremсор i folieförpackningen med torkmedel. Se till att förpackningen är helt försluten och återför till 2–8 °C till användningstillfället.
8. Exponera inte kalibratorer, kontroller eller substrat för ljus under förvaring.
9. Undvik kontaminering av reagenser. Använd en ny engångspipett vid varje reagens- eller provhantering.

8.4 Tecken på försämring

Substratet ska vara ofärgat till svagt gult i färgen. Mörkare gul färg indikerar kontaminering och reagensen måste då kasseras. Grumlighet och utfällning i någon komponent indikerar försämring och komponenten ska då kasseras.

9. PROVTAGNING OCH FÖRVARING

1. Analysen rekommenderas för humanserum (inklusive serumseparationsrör).
2. Använd inte starkt hemolyserade eller grumliga prover.
3. Blanda tinade prover ordentligt innan analysen och undvik upprepad infrysning/upptining.
4. Prover kan frysas och tinas tre gånger. Frysta prover ska centrifugeras vid $\geq 10\,000$ g i 5 minuter innan de analyseras.
5. Utsätt inte naturligt koagulerade eller plasmaderiverade prover för temperaturer över rumstemperatur under längre tid än över natten (≤ 16 timmar).
6. Plasmaderiverade prover kan förvaras vid 2–8°C i upp till 3 dagar och vid naturlig koagulation i fyra veckor; vid längre förvaring kan proverna förvaras naturligt koagulerade vid -20 °C i upp till 6 månader.
7. Bered varje prov före analys genom att tillsätta en lika stor volym förbehandlingslösning, t.ex. 150 μ l prov plus 150 μ l förbehandlingslösning. Förbehandlade prover kan förvaras under lock i upp till 24 timmar vid 2–8 °C före analysen.

10. TESTFÖRFARANDE

10.1 Beredning

Beredning för analysen

Låt alla kitets komponenter inklusive mikrotiterremсор värmas upp till 18–25 °C i 30-60 minuter före användning. Blanda reagenser genom varsam vändning.

När tvättbufferten förvaras vid 2–8 °C kommer den att fälla (kristaller syns eventuellt). Innan den spädas i vatten ska tvättbufferten värmas upp (den kan be placeras i en inkubator vid 37 °C om det behövs för att påskynda processen) tills **INGEN** utfällning syns med blotta ögat.

Späd följande reagens och blanda ordentligt:

Reagens	Volym	Tillsätt
Tvättbuffertkoncentrat x 8	1 flaska	175 ml destillerat/avjoniserat vatten

Beräkna antalet mikrotiterremсор som behövs för den aktuella analysen och sätt dessa i mikrotiterns remshållare. Lägg tillbaka resterande remсор i den återförslutningsbara förpackningen med torkmedel och förvara vid 2–8 °C tills de ska användas. Se till att alla remсор sitter ordentligt i mikrotiterns remshållare. Om så önskas kan varje remсор numreras längs övre kanten för att göra dem enklare att identifiera. Spara mikrotiterhållaren för framtida användning.

Bered varje prov före analys genom att tillsätta en lika stor volym förbehandlingslösning, t.ex. 150 µl prov plus 150 µl förbehandlingslösning. Förbehandlade prover kan förvaras under lock i upp till 24 timmar vid 2–8 °C före analysen.

10.2 Analysprotokoll

1. Referensbrunnar för identifiering.
2. Pipettera 100 µl kalibratorer i duplikat, kitkontroller i duplikat och förbehandlade (50:50) patientprover i duplikat i tillämpliga brunnar. Kom ihåg att byta pipett mellan de olika tillsatserna. Detta steg ska inte ta mer än 15 minuter.
3. Inkubera i 60±10 minuter vid 18–25 °C.
4. Häll av remсорnas innehåll genom att vända snabbt över en vask som är lämplig för kassering av biologiskt material med tanke på provernas potentiella smittrisk. Badda de avrunna remсорna ordentligt med pappershanddukar. **Tvätta inte.**
5. Tillsätt 100 µl konjugat i varje brunn.
6. Inkubera i 35±5 minuter vid 18–25 °C.
7. Häll av remсорnas innehåll genom att vända snabbt över en vask som är lämplig för kassering av biologiskt material. Badda de avrunna remсорna ordentligt med pappershanddukar.
8. Tvätta brunnarna **fem gånger** med minst 250 µl spädd tvättbuffert. **Häll av och badda efter varje tvätt.**
9. Tillsätt 100 µl substrat i varje brunn.
10. Inkubera i 30±5 minuter vid 18–25 °C. **Häll inte av.**
11. Tillsätt 100 µl stopplösning i varje brunn i samma ordning och grad som substratet. Blanda genom att knacka varsamt på brunnarna.
12. Läs av remсорna vid 405 nm. Läs av inom 120 minuter efter tillsats av stopplösning.

11. RESULTAT

11.1. Beräkning och tolkning

Plotta det genomsnittliga absorbansvärdet för varje kalibrator på y-axeln mot dess motsvarande koncentration i pmol/l på x-axeln. **KALIBRATORKONCENTRATIONERNA ANGES PÅ FLASKETIKETTERNA. KONCENTRATIONERNA TILLDELAS VARJE PARTI KALIBRATORER OCH KAN VARIERA MELLAN PARTIER.**

Koncentrationen (pmol/l) av varje prov kan beräknas genom att finna den punkt i kurvan som motsvarar det genomsnittliga provabsorbansvärdet och läsa av motsvarande koncentration i pmol/l på x-axeln. Det här förfarandet kan utföras manuellt med rutat papper eller en plattläsare med programvara som har kurvanpassningsfunktion. Om en plattläsare med inbyggd programvara används **bör en algoritm för kurvanpassning med linjär regression** användas.

En typisk kalibreringsplot (bild 1.) visas nedan som referens, den får inte användas för resultattolkning. Prover med koncentrationer över 128 pmol/l ligger utanför analysens område och ska dokumenteras som >128 pmol/l och resultaten får inte extrapoleras. Enskilda provreplikater som avviker mindre än 20 % kan antas indikera acceptans av analysen.

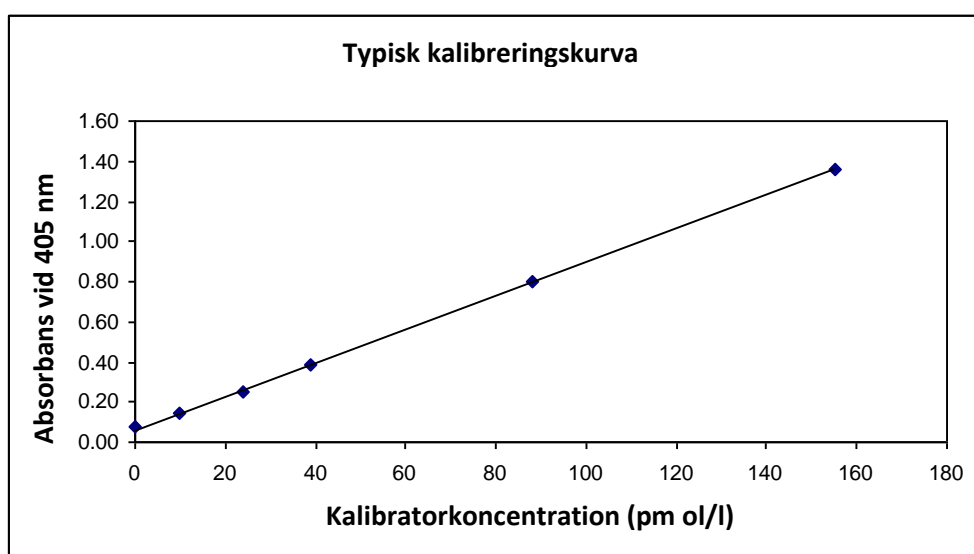


Bild 1. Typiska kalibreringskurva för BIOHIT Active B12 (Holotranscobalamin) analys.

Mätenhet

Mätenheten för analysen BIOHIT Active B12 (Holotranscobalamin) är pmol/l.

Mätintervall (rapporterbart område)

Analysens mätbara område är 10 pmol/l till 128 pmol/l.

11.2 Kvalitetskontroll

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

Användare måste se till att de är helt insatta i anvisningarna för analysen, speciellt avsnittet Varningar och försiktighetsåtgärder och kommentarerna om hantering och förfarande. Användare ska kunna visa att de kan uppnå värden i fråga om precision och rapporterbara intervall för analysresultaten som är jämförbara med tillverkarens innan patientens testresultat rapporteras. För att kunna övervaka kvaliteten i testförloppet måste låga och höga kitkontroller som är färdiga för användning köras i duplikat i alla analyser.

Under antagande att de precisionsvärden som tillverkaren uppger kan uppnås måste analyser där kontrollerna faller utanför värdena nedan ogiltigförklaras, varvid patientresultaten inte ska rapporteras. Användaren kan upprepa analysen efter att ha granskat sitt förfarande, eller kontakta tillverkaren. Om analysen upprepas ska en färsk spädning av varje prov beredas. Laboratorier kan vilja inkludera egna kontroller vid varje analyskörning.

Förvara sådant kontrollmaterial vid -20 °C och undvik upprepad infrysning/upptining. Konserveringsmedel som natriumazid <0,1 % (v/vol.) påverkar inte provresultaten.

Referensområden och tillämpliga brytpunkter ska beräknas för de specifika populationer som användare hanterar.

Tabell 1. Specifikationer för låga och höga kontroller.

Kontrollspecifikationer	Kontroll låg	Kontroll hög
Genomsnitt för duplikat	15 till 35 pmol/l	36 till 84 pmol/l

11.3 Förväntade värden

135 serumprover från asymtomatiska och till synes friska donatorer inom åldersgruppen 18-75 år, bestående av ungefär samma antal män [n = 65] och kvinnor [n = 70], testades i BIOHIT Active B12 (Holo-transcobalamin) EIA. Den övergripande genomsnittliga koncentrationen av Active-B12 (holo-transcobalamin) för denna population var 72 pmol/l (område 15 till 147 pmol/l). Baserat på data för den här referenspopulationen är referensområdet (centrala 95 % av resultaten):

Referensområde	21–123 pmol/l
----------------	---------------

Det här referensområdet föreslås endast som vägledning och varje laboratorium bör fastställa sitt eget referensområde som kan vara unikt för den population som hanteras, beroende på geografiska, patient-, kost- eller miljöfaktorer eller klinikens rutiner.

12. PRESTANDA DATA

Representativa data; resultat i enskilda laboratorier kan variera.

12.1 Spädningslinearitet

Enligt vägledning från CLSI-dokument EP6-A¹⁰ uppvisade BIOHIT Active B12 (Holotranscobalamin) linearitet över analysens mätområde, vilket påvisades i en studie från 5,3 till 156 pmol/l (avrundat till en decimal); resultat i enskilda laboratorier kan skilja sig från dessa data).

12.2 Exakthet

En korrelationsstudie utfördes med serumprover från till synes friska vuxna. Alla prover analyserades med BIOHIT Active B12 (Holotranscobalamin) EIA och en annan kommersiellt tillgänglig holotranscobalaminanalys i enlighet med CLSI-dokumentet EP9-A2¹¹. Provernas koncentration varierade mellan 13,8 till 112,8 pmol/l i analysen.

Tabell 2 visar de statistiska värden som erhöles.

Tabell 2. BIOHIT Active B12 (Holotranscobalamin) EIA jämfört med kommersiellt tillgänglig analys.

BIOHIT Active B12 (Holotranscobalamin) EIA jämfört med kommersiellt tillgänglig analys	
Antal prover	111
Lutning i regressionslinjen (Passing-Bablok-regression) (95 % CI)	0,95 (0,89 till 1,01)
Y-skärning (Passing-Bablok-regression) (95 % CI)	8,39 (5,73 till 11,77)
Korrelationskoefficient (r) (Pearson) (95 % CI)	0,93 (0,90 till 0,95)

12.3 Precision

Sju (7) humanserumprover analyserades med reagenser från tre partier. Proverna analyserades av två operatörer i replikat om åtta, en gång om dagen i fem dagar (total n=80). Data från denna studie sammanfattas i Tabell 3.

Tabell 3 Precisionsdata

Prov	n	Parti	Operatör	Medel (pmol/l)	Intraanalys % CV	Total % 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%
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%

12.4 Blankgräns

I en representativ studie utfördes bestämning av blankgräns med två prover med låg holotranscobalaminnivå och reagens från två partier (120 replikat per reagensparti). Blankgränsen för BIOHIT Active B12 (Holotranscobalamin) EIA befanns vara 4,9 pmol/l (avrundat till en decimal).

12.5 Detektionsgräns

I en representativ studie utfördes bestämning av detektionsgräns med fem prover med låg holotranskobalaminnivå och reagens från två partier (120 replikat per reagensparti). Detektionsgränsen för BIOHIT Active B12 (Holotranscobalamin) EIA befanns vara 8,1 pmol/l (avrundat uppåt till en decimal).

12.6 Kvantiteringsgräns

Bestämning av kvantiteringsgräns utfördes med fem prover med låg holotranskobalaminnivå och reagens från två partier (120 replikat per reagensparti). Kvantiteringsgränsen för BIOHIT Active B12 (Holotranscobalamin) EIA befanns vara 8,3 pmol/l (avrundat till en decimal).

12.7 High Dose Hook

High dose hook är en företeelse där prover med mycket höga nivåer kan läsas inom analysens dynamiska område. För BIOHIT Active B12 (Holotranscobalamin) EIA detekterades ingen "high dose hook"-effekt med två prover som koncentrationer på cirka 419 och 2 236 pmol/l.

12.8 Korsreaktivitet

BIOHIT Active B12 (Holotranscobalamin) är utformat till att ha en maximal avvikelse i holotranskobalaminkoncentrationen på $\leq 10\%$ i närvaro av apotranskobalamin eller haptokorrin.

En studie utfördes baserat på vägledning från Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) dokument EP7-A2¹². Tre prover med holotranskobalaminnivåer över hela analysområdet kompletterades med 500 pmol/ apotranskobalamin eller 5 000 pmol/l haptokorrin. Den högsta avvikelsen i holotranskobalaminkoncentration låg mellan -5 % och 1 %.

12.9 Interferens

BIOHIT Active B12 (Holotranscobalamin) är utformat till att ha en maximal avvikelse i holotranskobalaminkoncentrationen på $\leq 10\%$ i närvaro av potentiellt interfererande föreningar.

En studie utfördes baserat på vägledning från Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) dokument EP7-A2¹². Prover med holotranskobalaminnivåer över hela analysområdet kompletterades med de potentiellt interfererande föreningar som anges i Tabell 4 nedan. Den högsta avvikelsen i holotranskobalaminkoncentration låg mellan -10 % och 8 %.

Tabell 4. Lista över testade interfererande föreningar.

Potentiellt interfererande ämne	Ingen interferens förekom upp till följande koncentration
Hemoglobin	500 mg/dl
Bilirubin	30 mg/dl
Triglycerid (Intralipid-lösning)	3 000 mg/dl
Reumatoidfaktor	7 500 IU/dl
Totalt protein	9 000 mg/dl

13. GARANTI

Biohit avhjälpas alla defekter som påträffas i någon Produkt (den "Defekta produkten") som härrör från olämpliga material eller försumligt utförande och som förhindrar Produkternas mekaniska funktion eller avsedda användning inklusive, men inte begränsat till, de funktioner som anges i Biohits Produktspecifikationer. EVENTUELL GARANTI BETRÄKTAS DOCK SOM OGILTIG OM FELET VISAR SIG HA UPPSTÅTT TILL FÖLJD AV FELAKTIG HANTERING ELLER ANVÄNDNING, SKADA TILL FÖLJD AV OLYCKSHÄNDELSE, FELAKTIG FÖRVARING ELLER ANVÄNDNING AV PRODUKTERNA FÖR BRUK SOM LIGGER UTANFÖR DERAS ANGIVNA BEGRÄNSNINGAR, ELLER I STRID MOT DE ANVISNINGAR SOM LÄMNAS I INSTRUKTIONSMANUALEN. Garantiperioden framgår av Produkternas instruktionsmanual och börjar gälla från det datum då den relevanta Produkten skickas av Biohit. Detta diagnostiska kit från Biohit har tillverkats i enlighet med kvalitetsledningsprotokollen ISO 9001/ISO 13485. Vid eventuella konflikter om tolkningen av texten används den engelska texten.

14. BESTÄLLNINGSGENOMGÅNG






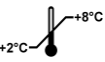



BIOHIT Active B12 (Holo-transkobalamin) Cat. No 602 290

15. UTGIVNINGSDATUM

BIOHIT Active B12 (Holo-transkobalamin) Version 02, August 2015.

16. 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 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*.

IVD	För <i>in vitro</i> -diagnostiskt bruk	CONTROL LOW	Låg kontroll
REF	Katalognummer	CONTROL HIGH	Hög kontroll
LOT	Batchkod	CONJ	Konjugat
	96 test	SUBS	Substrat
	Försiktighet	STOP	Stopplösning
	Se bruksanvisningen	PRE	Förbehandling
	Skyddas från ljus	WASH 8x	Tvättbuffertkoncentrat (8x)
	Används före	BLANK	Blank
	Förvaras vid 2–8 °C	CAL 1-5	Kalibratorer 1 till 5
	Får ej återanvändas		Frätande
			Skadligt

Huvudkontor

BIOHIT OYJ

Laippatie 1

00880 Helsinki, Finland

Tel: +358 9 773 861

Fax: +358 9 773 86200

E-mail: info@biohit.fi

www.biohithealthcare.com

400920-02