

BIOHIT HealthCare

Innovating for Health



BIOHIT ACTIVE B12
(HOLOTRANSCOBALAMIN)
KULLANIM TALİMATLARI

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

1. KULLANIM AMACI	4
2. GİRİŞ	4
3. TEST PRENSİBİ	4
4. UYARILAR VE ÖNLEMLER	5
5. KİT İÇERİĞİ	6
5.1 Konjugat solüsyonu	6
5.2 Substrat Solüsyonu	6
5.3 Stop Solüsyonu	6
5.4 Yıkama Tamponu Konsantresi	6
5.5 Mikroplaka	6
5.6 Boş solüsyon	6
5.7 Kalibratörler	6
5.8 Kontroller	6
5.9 Ön muamele solüsyonu	7
5.10 Kullanım talimatı	7
6. GEREKLİ OLUP SAĞLANMAYAN MATERYALLER/EKİPMAN	7
7. STANDARDİZASYON	7
8. MUHAFAZA VE STABİLİTE	7
8.1 Açılan (Kullanımda) Kit Stabilesi	7
8.2 Açılmamış kit stabilesi	7
8.3 Kullanım ve Prosedüre İlişkin Notlar	7
8.4 Bozulma Göstergeleri	8
9. NUMUNYİ ALMA VE MUHAFAZA ETME	8
10. TEST PROSEDÜRÜ	8
10.1 Hazırlama	8
10.2 Test protokolü	9
11. SONUÇLAR	10
11.1. Hesaplama ve yorumlama	10
11.2 Kalite kontrol	11
11.3 Beklenen değerler	11
12. PERFORMANS VERİLERİ	11
12.1 Seyreltme Doğrusallığı	12
12.2 Doğruluk	12

12.3 Kesinlik	12
12.4 Boş Sınırı	13
12.5 Saptama Sınırı	14
12.6 Kantifikasyon Sınırı	14
12.7 Yüksek Doz Kanca	14
12.8 Çapraz reaksiyon	14
12.9 Enterferans	14
13. GARANTİ	15
14. SİPARİŞ BİLGİLERİ.....	15
15. VERİLİŞ TARİHİ	15
16. REFERANSLAR	16

1. KULLANIM AMACI

BIOHIT Active B12 (Holotranskobalamin) testi, insan serumunda holotranskobalaminin (HoloTC) kantitatif olarak belirlenmesine yönelik bir enzim immünotestidir (EIA). HoloTC (transkobalamine bağlı B12 vitamini), B12 vitamini eksikliğini tanı ve tedavisine yardımcı olması amacıyla kullanılır.

2. GİRİŞ

B12 vitamininin vücut içinde taşınmasıyla ilişkili üç bağlayıcı protein bulunmaktadır; İntrensek Faktör (IF), transkobalamin (TC) ve haptokorrin (HC). Bu bağlayıcı proteinler, besinlerde bulunan çok düşük miktarlarda B12 vitamininin etkin bir şekilde alınmasını sağlar. TC ve HC, B12 vitaminini bağladığında oluşan kompleksler, vitamin taşımayan proteinlerden ayırt edilebilmeleri için holotranskobalamin (HoloTC) ve holohaptokorrin (HoloHC) olarak adlandırılır.

Dolaşımdaki temel fraksiyon olan HoloHC, kanda B12 vitamininin %70-90'ını temsil eder fakat biyolojik olarak inerttir. HoloTC kanda dolaşan B12 vitamininin yalnızca % 10-30'unu temsil eder fakat vücuttaki hücreler tarafından alınabilen tek B12 vitamini şeklidir. TC proteini tek başına B12 vitaminini ileumdaki emilim bölgesinden dokulara ve hücrelere taşır. Vitamin daha sonra spesifik reseptör aracılı alım yoluyla HoloTC (transkobalamine bağlı B12 vitamini) şeklinde içeri alınır. Bu işlem B12 vitaminini 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 olduğu için negatif bir B12 vitamini dengesine girildiğinde görülecek en erken değişiklik muhtemelen serum HoloTC konsantrasyonunda azalmadır¹.

Total Serum B12 ölçümünün bazı sınırlamaları vardır; özellikle ölçülen kobalaminin çoğu biyolojik açıdan inert olan HC'ye bağlıdır. Yayımlanmış birkaç çalışma HoloTC'nin B12 vitamini durumu açısından Total Serum B12'den daha iyi bir gösterge olacağı sonucuna varmıştır^{2,3}. Beklendiği şekilde, HoloTC düzeyleri B12 vitamini eksikliğini biyokimyasal bulguları olan hastalarda düşüktür⁴.

Düşük değerler, vejetaryenler⁵, veganlar⁶ ve B12 alımı düşük olan popülasyonlarda⁷ bildirilmiştir. Özellikle, sağlıklı bir kontrol grubundaki düzeylerle karşılaştırıldığında, Alzheimer hastalığı grubundaki hastalarda HoloTC düzeyleri düşükken serumda Total B12 düzeylerinin düşük olmaması dikkat çekmiştir⁸. HoloTC düzeyleri vitaminin son emiliminden bağımsız olarak B12 vitamininin durumunu yansıtır⁹.



3. TEST PRENSİBİ

Mikrotitre kuyucukları BIOHIT Active B12 (Holotranskobalamin) 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 holotranskobalamine 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 ürün elde edilir. pmol/L cinsinden holotranskobalamin konsantrasyonu doğrudan oluşan renkle ilişkilidir ve Kalibratörlere dayanan bir doz yanıtı eğrisinden interpolasyonla tahmin edilebilir.

4. 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 tam olarak uyun.
2. Ağızla pipetlemeyin.
3. Kitlerin ve numunelerin kullanıldığı alanlarda sigara içmeyin, herhangi bir şey yiyip içmeyin ve kozmetik malzemesi kullanmayın.
4. Cilt ile ilgili herhangi bir rahatsızlık, kesik, sıyrık ve diğer cilt lezyonları uygun şekilde korunmalıdır.
5. Kalibratörler, Kontroller, Konjugat, Ön Muamele 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 kaçınınız. Solüsyon dökülürse bol miktarda suyla silinmelidir. Cilde veya gözlere temas etmesi halinde suyla yıkayınız ve hemen tıbbi yardım isteyiniz.
7. Bu kitte yer alan tüm bileşenler ile ilgili malzeme güvenlik bilgi formları, talep halinde Biohit Oyj'ten alınabilir.
8. Bu ürün insan ve hayvan kaynaklı numunelerin ve materyallerin kullanımını gerektirir. Tüm insan ve hayvan kaynaklı materyallerin enfeksiyöz olabileceğinin düşünülmesi ve OSHA Kan Yoluyla Taşınan Patojenler Biyogüvenlik Düzeyi 2 Standardı ile uyumlu olarak kullanılması önerilir veya enfeksiyöz ajanlar içeren ya da içerdiğinden şüphelenilen materyaller için diğer uygun biyogüvenlik uygulamaları kullanılmalıdır.

 KOROZİF	Stop Solüsyonu	H314 P264 P280 P305+351+338	Ciddi cilt yanıklarına ve göz hasarına yol açar. Elleçlemeden sonra ... ile iyice yıkayınız. Koruyucu eldiven/koruyucu kıyafet/göz koruyucu/yüz koruyucu kullanınız. GÖZLE TEMASI HALİNDE: Su ile birkaç dakika dikkatlice durulayınız. Kontakt lens varsa ve çıkarması kolaysa, çıkarınız. Sürekli durulayınız.
 ZARARLI	Substrat	H302+312+332 P260 P271 P280 P301+310 P304+340 P312	Yutulması, ciltle temas etmesi veya solunum yoluna nüfuzu halinde zararlıdır. Tozunu/dumanını/gazını/sisini/buharını/spreyini solumayınız. Sadece dışarıda veya iyi havalandırılan bir alanda kullanınız. Koruyucu eldiven/koruyucu kıyafet/göz koruyucu/yüz koruyucu kullanınız. YUTULMASI HALİNDE: Hemen ULUSAL ZEHİR DANIŞMA MERKEZİNİN 114 NOLU TELEFONUNU veya doktoru/hekimi arayınız. SOLUNMASI HALİNDE: Zarar gören kişiyi açık havaya çıkarınız ve rahat nefes alabileceği pozisyonda olmasını sağlayınız. Kendinizi iyi hissetmezseniz, ULUSAL ZEHİR DANIŞMA MERKEZİNİNİN 114 NOLU TELEFONUNU veya doktoru/hekimi arayınız.
	Yıkama Tamponu Konsantresi (8X)	H302 H412 EUH032 P264 P270 P273 P301+310 P330	Yutulması halinde zararlıdır. Sucul ortamda uzun süre kalıcı, zararlı etki. Asitlerle temasında çok toksik gaz çıkarır. Elleçlemeden sonra ... ile iyice yıkayınız. Bu ürünü kullanırken hiçbir şey yemeyin, içmeyin veya sigara içmeyin. Çevreye verilmesinden kaçınınız. YUTULMASI HALİNDE: Hemen ULUSAL ZEHİR DANIŞMA MERKEZİNİN 114 NOLU TELEFONUNU veya doktoru/hekimi arayınız. Ağzınızı çalkalayınız.

5. KİT İÇERİĞİ

5.1 Konjugat solüsyonu **CONJ**

Bir adet 15 mL'lik flakonda protein stabilizörü içeren Tris tamponunda insan transkobalaminine alkalen fosfataz etiketli murin monoklonal antikor. Koruyucu madde: < %0,1 (w/v) sodyum azit. Kullanıma hazır.

5.2 Substrat Solüsyonu **SUBS**



Bir adet 15 mL'lik flakonda para-NitroFenil Fosfat (pNPP), tampon solüsyonu. Kullanıma hazır. Işıktan uzakta muhafaza edin.

DİKKAT ZARARLI.

5.3 Stop Solüsyonu **STOP**



Bir adet 15 mL'lik flakonda 1M Sodyum hidroksit, (pH >10).

Kullanıma hazır. DİKKAT KOROZİF.

5.4 Yıkama Tamponu Konsantresi **WASH 8x**



İki adet 25 mL'lik flakonda fosfat tamponu. Koruyucu madde: %0,72 (w/v) sodyum azit.

Kullanmadan önce seyreltin. DİKKAT ZARARLI.

5.5 Mikroplaka

Kurutucu maddeli açılıp kapanabilir folyo ambalajda anti-holotranskobalamin murin monoklonal antikor kaplı 12 x 8 kuyucuk mikrotitre (ayrı) stripi.

5.6 Boş solüsyon **BLANK**



Bir adet 1 mL'lik flakonda protein (sığır) stabilizörlü fosfat tamponu.

5.7 Kalibratörler **CAL 1-5**



Beş adet 1 mL'lik flakonda HoloTC içeren protein (sığır) stabilizörlü fosfat tamponu.

Koruyucu madde: < %0,1 (w/v) sodyum azit. Kullanıma hazır. Işıktan uzakta muhafaza edin.

KONSANTRASYONLAR İÇİN FLAKON ETİKETLERİNE BAKIN.

5.8 Kontroller **CONTROL LOW CONTROL HIGH**



Bir flakon düşük kontrol ve bir flakon yüksek kontrol: 1 mL'lik HoloTC içeren protein (sığır) stabilizörlü fosfat tamponu. Koruyucu madde: < %0,1 (w/v) sodyum azit.
Kullanıma hazır. Işıktan uzakta muhafaza edin.

5.9 Ön muamele solüsyonu **PRE**

Bir adet 25 mL'lik flakonda sitrat tamponu. Koruyucu madde: < %0,1 (w/v) sodyum azit. Kullanıma hazır.

5.10 Kullanım talimatı

6. GEREKLİ OLUP SAĞLANMAYAN MATERYALLER/EKİPMAN

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

7. STANDARDİZASYON

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

8. MUHAFAZA VE STABİLİTE

8.1 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 saklandıkları konuma tekrar konmalıdır.

8.2 Açılmamış kit stabilitesi

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

8.3 Kullanım ve Prosedüre İlişkin Notlar

1. Kit bileşenlerini 2-8°C sıcaklıkta muhafaza edin ve etiketlerdeki son kullanma tarihine kadar kullanın. Son kullanma tarihi geçmiş 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 dondurmuyun.
5. Yıkama Tamponu Konsantresi kullanımdan önce seyreltilmelidir. Diğer tüm reaktifler kullanıma hazırdır.
6. Seyreltilmiş Yıkama Tamponu mikrobiyal kontaminasyon olmadığı takdirde en az 3 ay stabildir. Her kullanımdan sonra tekrar 2-8°C'de saklandıkları konuma koyun.
7. Artık (kullanılmamış) mikrotitre striplerini kurutuculu folyo ambalaja geri koyun. Ambalaj mührünün bozulmadığından emin olun ve ihtiyaç duyulana kadar yeniden 2-8°C sıcaklıkta muhafaza edin.
8. Kalibratörleri, Kontrolleri veya Substratı saklama sırasında ışığa maruz bırakmayın.
9. Reaktifleri kontaminasyondan koruyun. Her bir reaktif veya numune kullanımı için yeni bir tek kullanımlık pipet ucu kullanın.

8.4 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.

9. NUMUNYİ ALMA VE MUHAFAZA ETME

1. Test insan serumu için önerilir (serum ayırıcı tüpleri dahil).
2. Ağır derecede hemolize veya bulanık numuneleri kullanmayın.
3. Çözölmüş numuneleri test öncesinde iyice karıştırın ve sürekli dondurup çözmekten kaçının.
4. Numunelere 3 dondurma/çözme döngüsü yapılabilir. Çözölmüş numuneler test öncesinde 5 dakika boyunca ≥ 10.000 g hızında santrifüjlenmelidir.
5. Pıhtılı veya pıhtısız numuneleri bir gecedan daha uzun süre (≤ 16 saat) 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 saklanmalıdır.
7. Her numuneyi test öncesinde numuneye eşit hacimde Ön Muamele solüsyonu ekleyerek hazırlayın, örn. 150 μ L numune artı 150 μ L Ön Muamele solüsyonu. Önceden muamele edilmiş numuneler kapağı kapatılmış olarak test öncesinde 2-8°C'de 24 saate kadar saklanabilir.

10. TEST PROSEDÜRÜ

10.1 Hazırlama

Teste Hazırlama

Mikrotitre stripleri dahil olmak üzere tüm kit bileşenlerinin kullanımdan önce 30-60 dakika boyunca 18-25°C sıcaklığa kadar ısınmasını sağlayın. Reaktifleri hafifçe ters çevirerek karıştırın.

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

Aşağıdaki reaktifi seyreltin ve iyice karıştırın:

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

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 numune artı 150 µL Ön Muamele solüsyonu. Önceden muamele edilmiş numuneler kapağı kapatılmış olarak test öncesinde 2-8°C'de 24 saate kadar saklanabilir.

10.2 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 kuyucuklara pipetleyin. Ekleme işlemleri arasında pipet uçlarını değiştirmeyi unutmayın. Bu aşama 15 dakikayı geçmemelidir.
3. 18-25°C sıcaklıkta 60±10 dakika inkübe edin.
4. Biyolojik maddelerin atılmasına uygun bir evyeye strip içeriğini hızla ters çevirerek boşaltın; numunelerin potansiyel enfeksiyon tehlikesini aklınızdan çıkarmayın. Ters çevrilen stripleri kağıt havlularla iyice kurulayın.
Yıkamayın.
5. Her bir kuyucuğa 100 µL Konjugat ekleyin.
6. 18-25°C sıcaklıkta 35±5 dakika inkübe edin.
7. Biyolojik maddelerin atılmasına uygun bir evyeye strip içeriğini hızla ters çevirerek 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 kuyucuklara parmağınızla yavaşça vurun.
12. Stripleri 405 nm değerinde okuyun. Stop Solüsyonunun eklenmesinden sonra 120 dakika içinde okuyun.

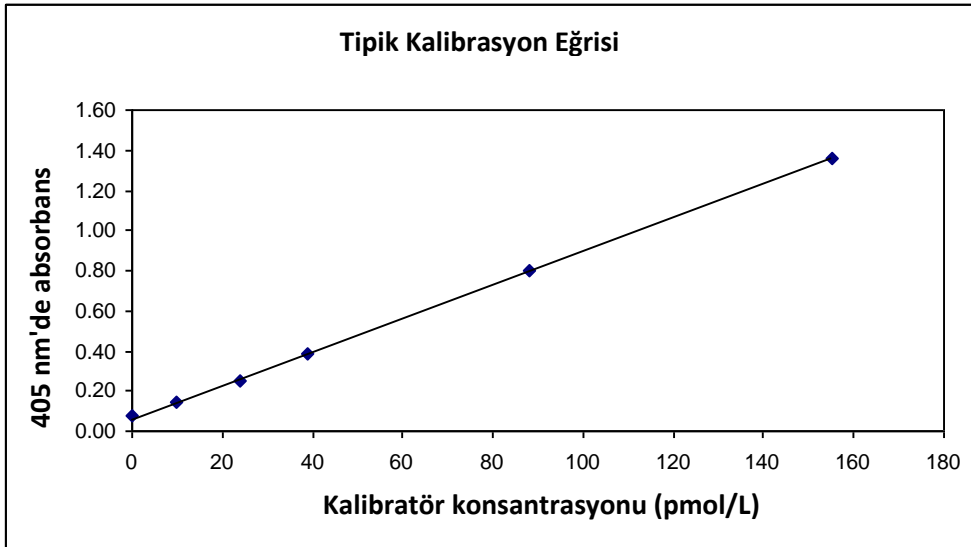
11. SONUÇLAR

11.1. Hesaplama ve yorumlama

Her Kalibratörün ortalama absorbands değerini y eksenine, x eksenindeki pmol/L cinsinden karşılık gelen konsantrasyona göre koyarak grafik çizin. **KALİBRATÖR KONSANTRASYONLARI FLAKON ETİKETLERİNDE GÖSTERİLİR. KONSANTRASYON DEĞERLERİ HER BİR KALİBRATÖR LOTUNA TAHSİS EDİLMİŞTİR VE LOTLAR ARASINDA FARKLILIK GÖSTEREBİLİR.**

Her numunenin konsantrasyonu (pmol/L) ortalama numune absorbands değerine karşılık gelen eğrideki nokta bulunarak ve pmol/L cinsinden karşılık gelen konsantrasyon x ekseninden okunarak hesaplanabilir. Bu prosedür grafik kağıdı kullanılarak manuel olarak veya eğri uyumu prosedürlerini içeren yazılıma sahip bir plaka okuyucu kullanılarak gerçekleştirilebilir. Dahili yazılım bulunan bir plaka okuyucu kullanıyorsanız, **bir lineer regresyon eğri uyumu algoritması** kullanılmalıdır.

Aşağıda referans amacıyla tipik bir kalibrasyon grafiği (Şekil 1.) gösterilmektedir ve sonuçları yorumlamak için kullanılmamalıdır. Konsantrasyonları 128 pmol/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.



Şekil 1. BIOHIT Active B12 (Holotranscobalamin) Testinin Tipik Kalibrasyon Eğrisi.

Ölçü Birimi

BIOHIT Active B12 (Holotranscobalamin) testinin ölçü birimi pmol/L'dir.

Ölçüm Aralığı (Bildirilebilir Aralık)

Testin ölçülebilir aralığı 10 pmol/L ila 128 pmol/L'dir.

11.2 Kalite kontrol

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

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

Üretici tarafından açıklanan kesinlik spesifikasyonlarının yerine getirildiği kabul edilirse, herhangi bir Kontrolün aşağıdaki Kontrol spesifikasyonlarını karşılamaması, testi geçersiz kılar ve hasta sonuçlarının bildirilmemesi gerekir. Operatör, prosedürü gözden geçirerek testi tekrarlayabilir veya 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 materyallerini -20°C'de veya altında saklayın ve dondurma/çözme döngüsünü tekrar etmekten kaçının. < % 0,1'deki (w/v) sodyum azit gibi koruyucu maddeler, numune sonuçlarını etkilemez.

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

Tablo 1. Düşük ve Yüksek Kontroller için Spesifikasyonlar.

Kontrol Spesifikasyonları	Düşük kontrol	Yüksek kontrol
İkili ortalaması	15 ila 35 pmol/L	36 ila 84 pmol/L

11.3 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, BIOHIT Active B12 (Holotranscobalamin) EIA ile test edilmiştir.

Genel ortalama Active-B12 (Holotranscobalamin) konsantrasyonu bu popülasyon için 72 pmol/L (aralık 15 ila 147 pmol/L) olmuştur. Bu referans popülasyon verileri temelinde, referans aralığı (sonuçların oran %95'i) şöyledir:

Referans Aralık	21 – 123 pmol/L
-----------------	-----------------

Bu referans aralık, 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 aralık belirlemelidir.

12. PERFORMANS VERİLERİ

Temsili veriler; ayrı laboratuvarların sonuçları değişkenlik gösterebilir.

12.1 Seyreltme Doğrusallığı

CLSI belgesi EP6-A¹⁰ kılavuzuna göre, BIOHIT Active B12 (Holotranscobalamin), 5,3 ile 156,0 pmol/L (virgülden sonra 1 haneye yuvarlanmış) aralığındaki bir çalışmada gösterildiği gibi testlerin ölçüm aralığında doğrusallık göstermiştir; ayrı laboratuvarlarda bu veriler değişkenlik gösterebilir.

12.2 Doğruluk

Sağlıklı görünen yetişkinlerden alınan serum numuneleriyle bir korelasyon çalışması yapılmıştır. Tüm numuneler BIOHIT Active B12 (Holotranscobalamin) EIA ve piyasada bulunan başka bir Holotranscobalamin testiyle CLSI belgesi EP9-A2¹¹ uyarınca analiz edilmiştir. Numune konsantrasyonları testte 13,8 ile 112,8 pmol/L aralığını vermiştir. Tablo 2 elde edilen istatistiksel değerleri göstermektedir .

Tablo 2. BIOHIT Active B12 (Holotranscobalamin) EIA ve piyasada bulunan bir test.

BIOHIT Active B12 (Holotranscobalamin) EIA ve piyasada bulunan bir test	
Numune sayısı	111
Regresyon çizgisinin eğimi (Passing-Bablok regresyonu) (%95 CI)	0,95 (0,89 ila 1,01)
Y-kesişimi (Passing-Bablok regresyonu) (%95 CI)	8,39 (5,73 ila 11,77)
Korelasyon katsayısı (r) (Pearson) (%95 CI)	0,93 (0,90 ila 0,95)

12.3 Kesinlik

Yedi (7) insan serumu numunesi 3 reaktif lotu kullanılarak test edilmiştir. Numuneler 2 kullanıcı tarafından 5 gün boyunca günde bir kez 8 replikat halinde test edilmiştir (toplam n = 80). Bu çalışmadan elde edilen veriler Tablo 3'te özetlenmiştir.

Tablo 3. Kesinlik verileri.

Numune	n	Lot	Operatör	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%

12.4 Boş Sınırı

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

12.5 Saptama Sınırı

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

12.6 Kantifikasyon Sınırı

Kantifikasyon sınırı saptamaları beş düşük düzey holotranskobalamin numunesi ve iki reaktif lotu (reaktif lotu başına 120 replikat) kullanılarak yapılmıştır. BIOHIT Active B12 (Holotranscobalamin) EIA kantifikasyon sınırı 8,3 pmol/L olarak bulunmuştur (virgülden sonra 1 haneye yuvarlanmış).

12.7 Yüksek Doz Kanca

Yüksek doz kanca, testin dinamik aralığında çok yüksek düzeydeki numunelerin okunabileceği bir fenomendir. BIOHIT Active B12 (Holotranscobalamin) EIA için yaklaşık 419 ve 2236 pmol/L konsantrasyonlu iki numuneyle yüksek doz kanca etkisi saptanmamıştır.

12.8 Çapraz reaksiyon

BIOHIT Active B12 (Holotranscobalamin), apotranskobalamin veya haptokorrin varlığında \leq %10 holotranskobalamin konsantrasyonunda maksimum sapmayı 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.

12.9 Enterferans

BIOHIT Active B12 (Holotranscobalamin) potansiyel olarak enterferans kaynağı bileşenlerin varlığında \leq %10 holotranskobalamin konsantrasyonundaki maksimum sapmayı gösterecek şekilde tasarlanmıştır. Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü (CLSI) belgesi EP7-A2¹² rehberliğinde bir çalışma gerçekleştirilmiştir. Holotranskobalamin düzeyleri bulunan numunelere, aşağıdaki Tablo 4'te listelenen potansiyel enterferans kaynağı bileşikler eklenmiştir. Holotranskobalamin konsantrasyonundaki maksimum sapma -%10 ile %8 arasında değişmiştir.

Tablo 4. Test edilen enterferans kaynağı bileşikler listesi.

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

13. GARANTİ

Biohit, herhangi bir Ürün'de ("Kusurlu Ürün") bulunan ve uygun olmayan malzemelerden ya da ihmalkar işçilikten kaynaklanan ve Biohit'in Ürünler için belirlediği spesifikasyonlarda belirtilen işlevler dahil ancak bunlarla sınırlı olmamak üzere Ürünler'in mekanik işlevlerini veya amaçlanan kullanımını önleyen her türlü kusuru giderecektir. BUNUNLA BERABER, KUSURA YANLIŞ DAVRANIŞ, YANLIŞ KULLANIM, KAZAEN OLUŞAN HASAR, HATALI DEPOLAMA VEYA OPERASYONLARA YÖNELİK ÜRÜNLERİN KULLANIM KILAVUZUNDA VERİLEN TALİMATLARIN AKSİNE BELİRTİLEN SINIRLAMALARIN DIŞINDA KULLANIMI YA DA SPESİFİKASYONLARIN DIŞINDA KULLANIMININ NEDEN OLDUĞU BELİRLENİRSE, HER TÜRLÜ GARANTİ GEÇERSİZ SAYILACAKTIR. Bu garantinin süresi Ürünler'in kullanım kılavuzunda belirtilmiştir ve ilgili Ürün'ün Biohit tarafından sevk edildiği tarihten itibaren başlayacaktır. Bu Biohit Tanılama seti ISO 9001 / ISO 13485 kalite yönetimi protokollerine uygun olarak üretilmiştir. Yorum farklılıklarında İngilizce metin geçerli sayılacaktır.

14. SİPARİŞ BİLGİLERİ

BIOHIT Active B12 (Holotranscobalamin) Cat. No 602 290

15. VERİLİŞ TARİHİ

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

16. REFERANSLAR

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	Yalnızca <i>in vitro</i> tanı amaçlı kullanım içindir	CONTROL LOW	Düşük Kontrol
REF	Katalog numarası	CONTROL HIGH	Yüksek Kontrol
LOT	Parti kodu	CONJ	Konjugat
 96	96 test	SUBS	Substrat
	Dikkat	STOP	Stop Solüsyonu
	Kullanım talimatlarına başvurun	PRE	Ön Muamele
	Işıktan Koruyun	WASH 8x	Yıkama Tamponu Konsantresi (8x)
	Son kullanma tarihi	BLANK	Boş
	2-8°C'de saklayın	CAL 1-5	Kalibratörler 1 – 5
	Tekrar kullanmayın		Korozif
			Zararlı

Merkez

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